Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik C
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. H. L. Krüskemper

Untersuchungen zum Einfluß des Fastens auf die Regulation des Schilddrüsenhormonstoffwechsels der Ratte

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

MATHIAS BEYER

1984

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0123

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik C
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. H. L. Krüskemper

Untersuchungen zum Einfluß des Fastens auf die Regulation des Schilddrüsenhormonstoffwechsels der Ratte

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

MATHIAS BEYER

1984

»Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf«

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.:
Prof. Dr. A. Hopf

Referent
gez.:
Prof. Dr. J. Herrmann

Korreferent
gez.:
Prof.Dr. F.A. Gries

Inhaltsverzeichnis

		Seite
	Zusammenfassung	1
I.	Einleitung	3
II.	Methoden	9
II. 1.	Haltung und Präparation der Tiere	9
1.1.	Vorbehandlung der Ratten	9
1.2.	Blutentnahme, Leberpräparation	9
1.3.	Gewinnung des Leberhomogenats	9
1.4.	Präparation der Mikrosomenfraktion	10
II. 2.	Radioimmunologische Bestimmung der Schilddrüsenhormone im Rattenserum	10
2.1.	Herstellung von thyroninfreiem Rattenserum	10
2.2.	Bestimmung des Gesamtthyroxins im Rattenserum	11
2.3.	Bestimmung des Gesamt-T_3 im Rattenserum	11
2.4.	Bestimmung des reverse T_3 (rT_3) im Rattenserum	12
2.5.	Bestimmung des freien T_4 und des freien T_3 im Rattenserum	12
II. 3.	Radioimmunologische Bestimmung des TSH im Rattenserum	13
3.1.	Markierung des Ratten-TSH mit ^{125}Jodid	13
3.2.	TSH-Radioimmunoassay	13
II. 4.	Bestimmung von T_4, T_3 und reduziertem Glutathion (GSH) im Lebergewebe	14
4.1.	Extraktion von T_4 und T_3 aus dem Lebergewebe	14
4.2.	Bestimmung des Thyroxins im Lebergewebeextrakt	14
4.3.	Bestimmung des T_3 im Lebergewebeextrakt	15
4.4.	Bestimmung des reduzierten Glutathion im Leberhomogenat	15
II. 5.	Untersuchungen des enzymatischen Abbaus	

Seite

von T_4 zu T_3 in der Lebermikrosomenfraktion 16

5.1. Inkubationsbedingungen für die Konversion von T_4 zu T_3 16

5.2. Bestimmung des gebildeten T_3 im Inkubat 16

5.3. Bestimmung des freien T_4 im Inkubationsansatz 17

II. 6. Untersuchung der Bindung des reverse T_3 an die Lebermikrosomenfraktion 18

6.1. Inkubationsbedingungen 18

6.2. Mathematische Auswertung der Bindungsversuche 18

II. 7. Statistische Auswertung der Meßergebnisse 20

III. Ergebnisse 21

III.1. Der Einfluß des Fastens auf das Körper- und Lebergewicht, die Proteinkonzentration der Rattenlebermikrosomenfraktion sowie das reduzierte Glutathion im Leberhomogenat 21

1.1. Körpergewicht 21

1.2. Lebergewicht und relatives Lebergewicht 23

1.3. Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion 23

1.4. Reduziertes Glutathion im Leberhomogenat 24

III.2. Der Einfluß des Fastens auf die Konzentrationen der Jodthyronine und des TSH 25

2.1. TSH im Serum 25

2.2. Gesamt-T_4 und freies T_4 im Serum, T_4-Konzentration im Lebergewebe 28

2.3. Gesamt-T_3 und freies T_3 im Serum, T_3-Konzentration im Lebergewebe 28

2.4. Reverse T_3 im Rattenserum 30

Seite

III.3. Der Einfluß des Fastens auf die enzymatische Dejodinierung des T_4 zu T_3 31

III.4. Der Einfluß des Fastens auf die Bindung des rT_3 an die Lebermikrosomenfraktion 35

IV. Diskussion 38

Abkürzungsverzeichnis 57

Literaturverzeichnis 58

Danksagung 72

Lebenslauf 73

Zusammenfassung

Um Näheres über den Mechanismus des Low-T_3-Syndroms beim Fasten zu erfahren, wurde Ratten 1, 3, 6 und 10 Tage lang das Futter entzogen. Anschließend wurden die Schilddrüsenhormonkonzentrationen in Serum und Lebergewebe mit denen einer Kontrollgruppe verglichen. Nach der Gewinnung der Lebermikrosomen ließen sich die Konversion von T_4 zu T_3 in der Leber und die Bindung des reverse T_3 an die Mikrosomenfraktion untersuchen. Als Cofaktor für die enzymatische Dejodinierung wurden die nichtproteingebundenen Thiolgruppen (hauptsächlich reduziertes Glutathion) im Lebergewebe gemessen.

Es zeigte sich, daß das TSH, das Gesamtserum-T_4 und das Leber-T_4 nach 3 Fastentagen, das freie Serum-T_4 nach 6 Tagen signifikant abgesunken waren. Das Gesamt-T_3, freie T_3 sowie das Leber-T_3 fielen schon nach einem Hungertag signifikant ab. Diese Tendenzen setzten sich in den folgenden Tagen fort. Das reverse T_3 dagegen stieg nach einem dreitägigen Absinken auf ca. 25 % der Kontrolle wieder auf etwa 70 % nach 10 Tagen an.

Die Konversionsstudien zur enzymatischen Dejodinierung des T_4 zu T_3 ergaben ab dem dritten Tag sowohl einen signifikanten Abfall der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit als auch einen Anstieg der Michaelis-Menthen-Konstante. Zusätzlich sank das reduzierte Leberglutathion bereits nach einem Fastentag signifikant auf etwa 35 % des Kontrollwertes ab, um danach wieder langsam auf ca. 70 % nach 10 Tagen anzusteigen. Die Untersuchungen zur Bindung des reverse T_3 an die Lebermikrosomenfraktion zeigten weder für die maximale Bindungskapazität noch für die Dissoziationskonstante signifikante Veränderungen.

Die aufgezeigten Ergebnisse lassen sich folgendermaßen interpretieren:

1) Verminderung der TSH-gesteuerten Hormonausschüttung durch die Schilddrüse.

2) Beeinträchtigung der Konversion von T_4 zu T_3 (5'-Dejodinase) durch Substratmangel, anfänglichen Cofaktormangel und eine Beeinflussung des Enzyms selbst. Hierbei wären eine nicht kompetitive Hemmung durch einen noch unbekannten Hemmfaktor oder der Mangel eines bislang verborgenen Cofaktors zu diskutieren.

3) Die Veränderungen der reverse T_3-Konzentration resultieren möglicherweise aus den obengenannten Einflüssen: Nach einem anfänglichen Substrat- und Cofaktormangel für die Konversion von T_4 zu T_3 (5'-Dejodinase) überwiegen später der Wiederanstieg des GSH sowie die Hemmung des Abbaus des rT_3 zu T_2 durch die herabgesetzte Aktivität der 5'-Dejodinase.

Die Veränderungen der Konversion von T_4 zu T_3 scheinen eine wesentliche Erklärung für die Veränderungen der Serumhormonkonzentrationen während des Fastens zu sein. Allerdings bilden sie nur einen Baustein innerhalb eines komplexen Regelsystems zur Veränderung des Schilddrüsenhormonstoffwechsels.

I. Einleitung

Schon 1926 entdeckte Harington den chemischen Aufbau des L-Thyroxins (L-3',5',3,5-Tetrajodthyronin). Es handelt sich hierbei um eine Aminosäure mit 2 Benzolringen, einem inneren, = Tyrosylring und einem äußeren, = Phenolring. Das L-Thyroxin (T_4) enthält an beiden Ringen je zwei Jodatome (Abb. 1). 1952 wiesen Gross und Pitt Rivers ein weiteres Thyronin im menschlichen Serum nach, das Trijodthyronin (T_3), welches am äußeren (Phenol-)Ring nur ein Jodatom besitzt. Für dieses 3,5,3'-Trijodthyronin ließ sich eine viel höhere biologische Aktivität nachweisen als für das T_4. Das zweite Trijodthyronin (3,3',5'-Trijodthyronin = reverse T_3 oder rT_3) und alle geringer jodierten Thyronine zeigen keine wesentliche hormonelle Aktivität (Abb. 2).

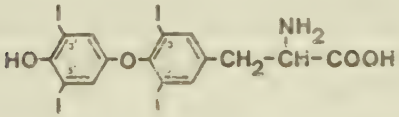

Abbildung 1:
L-Thyroxin

Die biologische Wirkung der von der Schilddrüse sezernierten Hormone ist außerordentlich vielfältig. Sie reicht von der exakt beschreibbaren Steuerung der Synthese einzelner Enzyme zum Beispiel des Malatenzyms (Chopra, 1981a), bis zu Beeinflussungen der Intelligenz und der Skelettreifung bei Jugendlichen. Die Thyronine lagern sich in der Zelle an Kernrezeptoren an und induzieren dabei die Synthese von messenger-RNS, die wiederum zu einer Produktion von Enzymen führt (Oppenheimer, 1979). Andere, von der Enzymsynthese unabhängige Effekte der Schilddrüsenhormone lassen sich zum Beispiel an den Mito-

chondrien (Sterling et al, 1977) und an der Na-K-ATPase der Zellmembran (Blanchard und Davis, 1978) erkennen.

Die menschliche Schilddrüse sezerniert normalerweise täglich etwa 100 nmol T_4, 10 nmol T_3 und 2 nmol rT_3 (Abb. 2). Diese Jodthyronine werden im Blut zum größten Teil an Transportproteine gebunden (Robbins und Rall, 1952). Woeber und Ingbar (1974) wiesen nach, daß die Eiweißbindung des T_4 mehr als

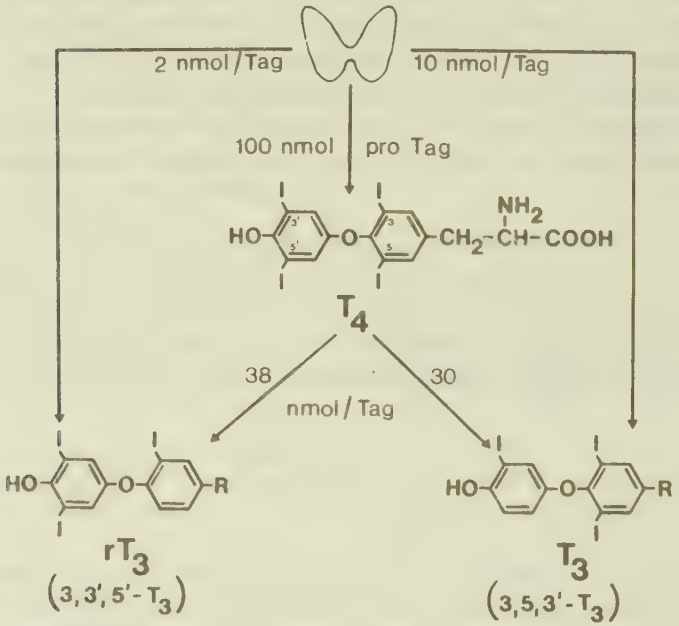

Abb. 2: Schematische Darstellung der Produktion von T_4, T_3 und rT_3 beim gesunden Menschen

99.9 % bzw. die des T_3 mehr als 99.0 % beträgt. Da die hormonelle Aktivität der Schilddrüsenhormone jedoch besser mit dem freien Anteil korreliert, erscheint es sinnvoll, zusätzlich zu den Gesamtthyroninkonzentrationen auch die freien Hormonkomponenten im Serum zu bestimmen (Herrmann, 1979).

Der Abbau des Thyroxins erfolgt zu ca. 80 % durch periphere Dejodination in extrathyreoidalen Geweben, hauptsächlich in der Leber und in der Niere. Dabei entstehen beim Menschen täglich etwa 30 nmol des biologisch aktiven T_3 (5'-Dejodination) und etwa 35 - 40 nmol des inaktiven reverse T_3 (5-Dejodination). Die übrigen 20 % des T_4 werden durch oxidative Desaminierung, Konjugation oder Ätherbrückenspaltung abgebaut (Cavalieri et al, 1977).

In Kinetikstudien auch am Menschen wurde nachgewiesen, daß T_3 und rT_3 fast vollständig zu 3,3'-T_2 dejodiniert werden (Gavin et al, 1978), während der Abbau zu den beiden übrigen Dijodthyroninen 3',5'-T_2 und 3,5-T_2 nur eine sehr geringe quantitative Bedeutung hat. Dabei liegt die Dejodinationsgeschwindigkeit für rT_3 wesentlich höher als die für T_3. So erklärt sich, daß die T_3-Konzentration im Serum höher ist als die des rT_3.

Wie oben ausgeführt, stammen ungefähr 75 % des T_3 und fast das gesamte rT_3 aus der peripheren Dejodination (Konversion) des Thyroxins (Abb. 2). Es konnte nachgewiesen werden, daß die Dejodination durch einen enzymatischen Prozeß erfolgt, der überwiegend im Leber- und Nierengewebe abläuft (Chopra, 1977). Durch subzelluläre Fraktionierungen ließ sich eine 5'-Dejodinase in der Mikrosomenfraktion der Rattenleber lokalisieren (Hesch et al, 1975; Visser et al, 1976).

In vitro-Untersuchungen an der Mikrosomenfraktion der Rattenleber ergaben Dosis-Wirkungsbeziehungen, bei denen sich die T_3-Produktion mit steigenden Substratkonzentrationen bis zu einem Maximum erhöhte. Visser et al (1979) gaben erstmals

V_{max}- und scheinbare K_m-Werte für dieses System an. Die Auswertung der Dosis-Wirkungskurven mit Hilfe des Lineweaver-Burk-Plots (doppelt reziproke Darstellung) ergibt jedoch systematische Abweichungen von Geraden, sofern man als Substratkonzentration das Gesamt-T_4 im Inkubat einsetzt (Heinen et al, 1980). Schwartz et al zeigten 1969, daß T_4 auch an die Rattenlebermikrosomen gebunden wird. Der gebundene Anteil steht aber nicht mehr für die enzymatische Dejodination zur Verfügung. Unter Berücksichtigung der freien T_4-Konzentration gelang es Heinen et al (1980), im Lineweaver-Burk-Plot Geraden und damit die tatsächlichen K_m-Werte zu ermitteln.

Wie Untersuchungen zum Beispiel vom Visser (1979) ergaben, ist die Dejodination des T_4 zu T_3 von der Anwesenheit von SH-gruppenhaltigen Substanzen abhängig. Vieles spricht dafür, daß in vivo das reduzierte Glutathion (GSH) der SH-gruppenhaltige Cofaktor ist. Hierbei handelt es sich um ein Tripeptid (γ-Glutamyl-cysteinyl-glycin), welches reduzierende Eigenschaften besitzt und sich zum Beispiel im Lebergewebe der Ratte in einer Konzentration von etwa 5 mmol/l nachweisen läßt.

Die Struktur der dejodinierenden Enzyme ist noch nicht geklärt. Einige Untersuchungen (Hüfner und Grussendorf, 1978; Chopra 1977; Visser et al 1978; Heinen et al, 1980) lassen darauf schließen, daß T_4 und reverse T_3 vom gleichen Enzym der 5'-Dejodinase, zu T_3 bzw. 3,3'-T_2 abgebaut werden, da sie sich gegenseitig kompetitiv hemmen. Dagegen scheint die Dejodination von T_4 zu reverse T_3 bzw. von T_3 zu 3,3'-T_2 von einer 5-Dejodinase katalysiert zu werden. Für diese Untersuchungen sprechen vor allem Untersuchungen von Heinen et al (1980), die für T_4 zwei verschiedene Bindungsstellen, für T_3 und reverse T_3 aber jeweils nur eine spezifische Bindungsstelle in der Lebermikrosomenfraktion nachwiesen. Die Ergebnisse lassen vermuten, daß T_4 und reverse T_3 um die spezifische Bindungsstelle der 5'-Dejodinase und T_4 und T_3 um die der 5-Dejodinase konkurrieren.

Prinzipiell ist eine Beeinträchtigung der Dejodination durch die folgenden Mechanismen denkbar:

1) durch eine Verminderung der Cofaktoren
2) durch eine Verminderung der Menge der dejodinierenden Enzyme
3) durch eine Beeinflussung der Bindung des Substrates an das Enzym
4) durch eine Hemmung der enzymatischen Aktivität

Ein Teil der genannten Mechanismen konnte schon nachgewiesen werden: Die Zugabe von Diamid zum Reaktionsgemisch bewirkt zum Beispiel eine Verminderung des SH-gruppenhaltigen Cofaktors und damit eine Verlangsamung der enzymatischen Reaktion (Kaplan et al, 1979; Chopra et al, 1981b). Heinen et al (1980) wiesen einen kompetitiven Antagonismus des rT_3 bei der Konversion des T_4 zu T_3 nach und konnten ihn durch eine Konkurrenz zwischen T_4 und rT_3 bei der Bindung an die 5'-Dejodinase erklären. Chopra zeigte 1977 eine unkompetitive Hemmung der Dejodination des T_4 durch Propylthiouracil (PTU).

Die klinische Bedeutung einer Veränderung der peripheren Konversion ist dadurch begründet, daß bei verschiedenen Krankheiten und Stoffwechsellagen eine Hemmung insbesondere der 5'-Dejodinase nachgewiesen wurde, was zu einer Abnahme des Serum-T_3 und Zunahme des Serum-rT_3 bei weitgehend unverändertem Serum-T_4 führt. Man spricht in diesem Zusammenhang vom "Low T_3-Syndrom".

So konnte ein Low T_3-Syndrom bei Leber- (Chopra et al, 1974) und Niereninsuffizienz, bei Neugeborenen (Chopra et al, 1975b) und im Alter (Brunelle et al, 1972; Snyder et al, 1972; Rubinstein et al, 1973; Herrmann et al, 1974, 1981), bei schweren, nichtthyreoidalen Erkrankungen (Reichlin et al, 1973; Chopra et al, 1975a; Burr et al, 1975) und beim Diabetes mellitus (Saunders et al, 1978) nachgewiesen werden, ferner nach Gabe verschiedener Substanzen, die die Konversion hemmen (Propyl-

thiouracil: Oppenheimer et al, 1972; Propranolol: Wiersinga und Touber, 1977; Dexamethason: Duick et al, 1974, Chopra et al, 1975c).

Eine weitere "Ursache" für ein Low T_3-Syndrom beim Menschen ist das Fasten (Portnay et al, 1974; Vagenakis et al, 1975). Kinetikstudien machten deutlich, daß eine verminderte Dejodination des T_4 zu T_3 für diesen Zustand verantwortlich ist (Vagenakis et al, 1977; Suda et al, 1978).

Zur Zeit wird darüber diskutiert, welche der oben angeführten Mechanismen die Beeinträchtigung der Dejodination der Thyronine beim Fasten herbeiführen. Da beim Menschen den Untersuchungen zur Konversion und zum "Low T_3-Syndrom" enge Grenzen gesetzt sind, soll in der vorliegenden Arbeit der Einfluß des Fastens auf den Schilddrüsenhormonstoffwechsel der Ratte untersucht werden. Über die Messung des Serum-TSH und der Serum- und Gewebekonzentrationen der Thyronine hinaus werden folgende Parameter bestimmt:

1) die Konzentration des reduzierten Glutathions, des Cofaktors der enzymatischen Reaktion,
2) die Konstanten für die Bindung von rT_3 an die Lebermikrosomenfraktion, um eine Aussage über eventuelle Änderungen der Menge oder Bindungseigenschaften der 5'-Dejodinase machen zu können (s. Heinen et al, 1980),
3) die Konstanten V_{max} und K_m der Konversion des T_4 zu T_3, um Art und Ausmaß der Hemmung der enzymatischen Aktivität eingrenzen zu können.

II. Methoden

II.1. Haltung und Präparation der Tiere

II.1.1. Vorbehandlung der Ratten

Bei den Versuchstieren handelte es sich um männliche, ca. 6 monate alte Wistar-II-Ratten aus der Zentralen Tierversuchsanlage der Universität Düsseldorf, die in Einzelkäfigen mit Drahtgitterböden gehalten wurden. Ihr Ausgangsgewicht betrug im Mittel etwa 400 g, sie erhielten Altrumin R® Rattenfutter und Wasser ad libitum.
Nach Einteilung der Tiere in eine Kontrollgruppe (n=14) und vier Fastengruppen (n jeweils=12) wurde den Fastentieren je nach Kollektiv einen, drei, sechs oder zehn Tage vor der Präparation das Trockenfutter entzogen. Das Körpergewicht wurde täglich gemessen.

II.1.2. Blutentnahme, Leberpräparation

Zehn Tage nach Versuchsbeginn wurden die Tiere in Äthernarkose getötet. Nach Eröffnung des Peritoneums wurden etwa 10 ml Blut aus der unteren Hohlvene entnommen und zur Bestimmung der Schilddrüsenhormonkonzentrationen bzw. des TSH im Serum verwendet. Anschließend wurden die Lebern mit 4°C kalter KCl-Lösung (0.15 mol/l) in situ perfundiert, herauspräpariert, auf Filterpapier kurz getrocknet und gewogen. Die Gewinnung des Leberhomogenats und der Mikrosomenfraktion erfolgten bei 4°C.

II.1.3. Herstellung des Leberhomogenats

Nach der Zerkleinerung der Lebern mit einer Schere wurden sie unter Verwendung eines Glaszylinders mit Kunststoffkolben bei 1000 U/min in drei Volumina (g/ml) des folgenden Puffers homogenisiert: 320 mmol/l Saccharose, 20 mmol/l Tris-Puffer, 1 mmol/l $MgCl_2$, pH 7.5 .

Von je sechs Ratten pro Kollektiv wurde die Konzentration des GSH im Leberhomogenat bestimmt. Zusätzlich wurden 2.0 ml des Homogenats mit 0.2 ml Natriumphosphatpuffer (0.1 mol/l, pH 7.5), der Propylthiouracil (0.1 mol/l) zur Konversionshemmung enthielt, vermischt und zur Bestimmung der Gewebehormonkonzentrationen eingefroren.

II.1.4. Präparation der Mikrosomenfraktion

Das Rattenleberhomogenat wurde bei 3000 g (20 min) zentrifugiert und der Überstand durch 4 Lagen Gaze filtriert. Das Dekantat wurde anschließend 15 Minuten lang bei 15000 g, der entstehende Überstand bei 105000 g 60 Minuten lang zentrifugiert.
Das Sediment, welches die Mikrosomenfraktion darstellt, wurde in dem unter II.1.3. beschriebenen Saccharosepuffer mit Hilfe des dort angeführten Homogenisators resuspensiert. Anschließend wurde der Eiweißgehalt der Mikrosomensuspension mit Hilfe der Lowry-Methode gemessen. Als Standard diente Rinderserumalbumin.

II.2. Radioimmunologische Bestimmung der Schilddrüsenhormone im Rattenserum

II.2.1. Herstellung von thyroninfreiem Rattenserum

Zur Erstellung von Standardkurven wurden exakte Verdünnungsreihen der Thyronine in thyroninfreiem Rattenserum benötigt, das wie folgt hergestellt wurde:
167 g Aktivkohle und 16.7 g Dextran wurden in einem Liter eines Puffers, der 138 mmol/l NaCl, 10 mmol/l Natriumphosphatpuffer (pH 7.4) und 10 g/l Rinderserumalbumin enthielt, 24 Stunden lang geschüttelt, abzentrifugiert (3000 g, 15 min) und im Lyophilisator getrocknet. Zu 100 ml Rattenserum wurden 20 g der so behandelten Kohle gegeben und zur Extraktion der Hormone bei 4°C 12 Stunden lang geschüttelt. Danach wurde die

Aktivkohle wieder abzentrifugiert (3000 g, 15 min).
Vor der Hormonextraktion waren 50 nCi ^{125}Jod-markiertes Thyronin pro ml Serum hinzugefügt worden; die Wiederfindung zeigte, daß mehr als 99 % sowohl des T_4, T_3 als auch des reverse T_3 extrahiert worden waren.
Außerdem wurden die Gesamteiweißkonzentrationen und die Verteilung der Eiweißfraktionen in der Elektrophorese des Rattenserums vor und nach der Extraktion verglichen. Hierbei ergaben sich keine Unterschiede.

II.2.2. Bestimmung des Gesamtthyroxins im Rattenserum

Die Gesamt-T_4-Konzentration im Rattenserum wurde radioimmunologisch unter Verwendung eines Solid Phase Antikörpers der Fa. Corning Medical (Medfield, Massachussetts, USA) bestimmt. Das Thyroxin der Standardproben war in einem Puffer gelöst, der sich aus 50 mmol/l Natriumphosphat (pH 7.5), 154 mmol/l NaCl und 1.0 g Rinderserumalbumin/l zusammensetzte. Jedem Eichwert wurden außerdem 25 µl des thyroninfreien Rattenserums und jeder Serumprobe (25 µl) eine entsprechende Menge des oben beschriebenen Puffers zugesetzt.
Die Empfindlichkeit des RIA betrug 350 pg/Ansatz, Kreuzreaktionen mit anderen Thyroninen konnten vernachlässigt werden. Die Intraassayvarianz lag bei 4.2 %, die Interassayvarianz bei 5.2 %. Alle Serumproben wurden in einem Ansatz bestimmt.

II.2.3. Bestimmung des Gesamt-T_3 im Rattenserum

Auch das Gesamt-T_3 im Rattenserum wurde radioimmunologisch bestimmt. Dazu wurden ein Solid Phase Antikörper der Fa. Amersham Buchler (GmbH & Co KG, Braunschweig) verwendet. Die Erstellung der T_3-Standardkurve erfolgte analog der unter II.2.2. beschriebenen Thyroxineichkurve.
Die Kreuzreaktion des Antikörpers sowohl mit T_4 als auch mit den anderen Jodthyroninen lag unter 0.03 %. Die Intraassayvarianz betrug 4.6 %, die Interassayvarianz 5.0 % und die

Empfindlichkeit des Assays 5 pg/Ansatz. Die Seren aller Tiere wurden in einem Ansatz bestimmt.

II.2.4. Bestimmung des Gesamt-rT_3 im Rattenserum

Die rT_3-Konzentration im Rattenserum ließ sich durch einen Radioimmunoassay der Fa. Serono (Rom, Italien) bestimmen. Lediglich das in der Testbeschreibung angegebene thyroninfreie Menschenserum wurde durch thyroninfreies Rattenserum ersetzt. Die Kreuzreaktion des Antikörpers mit T_4 lag bei 0.08 %, mit den übrigen Thyroninen ergaben sich noch niedrigere Werte. Die Assayempfindlichkeit betrug 6 pg/Ansatz, die Intraassayvarianz 6.2 % und die Interassayvarianz 6.5 %. Alle Serumproben wurden in einem Ansatz bestimmt.

II.2.5. Bestimmung des freien T_4 und des freien T_3 im Rattenserum

Die Konzentration des freien T_4 bzw. des freien T_3 im Rattenserum wurde durch einen Test der Fa. Lepetit (Mailand, Italien) bestimmt. Dabei passiert eine bestimmte Menge Serum eine LH 20 Säule, welche proportional zum Gehalt an freiem T_4 bzw. freien T_3 die entsprechenden Thyronine bindet. Diese lassen sich anschließend mit Methanol von der Säule eluieren. Das Methanol wird abgedampft, der Niederschlag mit einem Puffer aufgenommen, und die Konzentrationen des T_4 bzw. T_3 werden radioimmunologisch bestimmt.
Die Kreuzreaktion des T_4-Antikörpers mit rT_3, T_3 und T_2 lag unter 1 %, die Assayempfindlichkeit betrug 16 pg/Ansatz, die Intraassayvarianz 5.5 % und die Interassayvarianz 7.1 %.
Die Kreuzreaktion des T_3-Antikörpers betrug mit rT_3 1 %, mit T_4 0.1 %. Die Empfindlichkeit des T_3-Assays lag bei 7 pg/Ansatz, die Intraassayvarianz bei 5.8 % und die Interassayvarianz bei 8.5 %. Alle Serumproben wurden jeweils im gleichen Ansatz bestimmt.

II.3. Radioimmunologische Bestimmung des TSH im Rattenserum

II.3.1. Markierung des Ratten-TSH mit ^{125}Jodid

Die Markierung des Ratten-TSH erfolgte nach einer vom NIAMDD (National Institute of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases, Baltimore, Maryland, USA) angegebenen Methode durch Jodierung des TSH in Anwesenheit von Chloramin T:
Zu 5 µg Ratten-TSH in 50 µl Natriumphosphatpuffer (200 mmol/l, pH 7.6) wurden 1.5 mCi ^{125}Jodid (spezifische Aktivität 10 Ci/mg Jodid) gegeben. Die Jodierungsreaktion wurde durch Zugabe von 100 nmol Chloramin T in Gang gesetzt und nach 40 Sekunden durch 630 nmol Natriumdisulfit gestoppt. Das Reaktionsprodukt wurde mit 100 µl normalem Kaninchenserum versetzt, auf eine Sephadex G 75 Säule (10 x 300 mm) gegeben und anschließend mit Natriumphosphatpuffer (10 mmol/l, pH 7.6) bei 4°C eluiert. Von jeder der aufgefangenen Proben à 0.5 ml wurde die Aktivität bestimmt. Die anschließende radioimmunologische Kontrolle zeigte, welche TSH-Fraktion die stärkste Bindung an einen TSH-Antikörper aufwies und somit als Tracer für den RIA zur Bestimmung des Ratten-TSH geeignet war. Diese Fraktion wurde bis zum Gebrauch bei -20°C aufbewahrt.

II.3.2. TSH-Radioimmunoassay

Die Konzentration des TSH im Rattenserum wurde unter Verwendung eines Doppelantikörperradioimminoassays bestimmt. Die eingesetzte Serummenge betrug 0.4 ml je Probe, der Endtiter des vom NIAMDD zur Verfügung gestellten Ratten-TSH-Antikörpers lag bei 1 : 40000. Unter diesen Bedingungen zeigte sich in Abwesenheit von nicht markiertem TSH eine Bindung von rund 30 % des markierten TSH.
Die Assayempfindlichkeit betrug 1.5 µU/Ansatz, die Intraassayvarianz lag bei 5.8 %, die Interassayvarianz bei6.5 % . Alle Serumproben wurden in einem Ansatz bestimmt.

II.4. Bestimmung von T_4, T_3 und reduziertem Glutathion im Lebergewebe

II.4.1. Extraktion von T_4 und T_3 aus dem Lebergewebe

T_4 und T_3 wurden nach Ansäuerung von jeweils 1 ml des unter II.1.3. beschriebenen, mit PTU versetzten Leberhomogenates mit 0.2 ml 1n HCl dreimal mit 1 ml Butanol (1n) extrahiert. Dem gesammelten Extrakt (3 ml) wurden 3 ml Chloroform zugesetzt. Anschließend erfolgte eine dreimalige Extraktion mit jeweils 1 ml 2n Ammoniak (Methode nach Takaishi et al, 1978). Alle Reagentien erhielten wie das Leberhomogenat einen Zusatz von 0.1 mmol/l PTU zur Vermeidung einer spontanen Dejodination. Die so erhaltenen Proben wurden lyophilisiert und in einem Puffer aufgenommen, der 50 mmol/l Natriumphosphat (pH 7.5), 150 mmol/l NaCl und 1 g/l Rinderserumalbumin enthielt.
Der Grad der Extraktion wurde in jeder Probe durch die Messung der Wiederfindungsrate einer vorher zugesetzten Menge ^{125}Jod-T_4 bzw. -T_3 bestimmt und später bei der Berechnung der Thyroninkonzentrationen im Lebergewebe berücksichtigt. Es ergab sich eine Wiederfindung von etwa 85 % für T_4 und 90 % für T_3.
In Kontrollversuchen, bei denen einem Pool aus Leberhomogenaten verschiedene Mengen nicht markiertes T_4 bzw. T_3 zugegeben wurden, ließen sich diese zu etwa 95 % wiederfinden.

II.4.2. Bestimmung des Thyroxins im Lebergewebeextrakt

Die Messung der T_4-Konzentration im Lebergewebeextrakt erfolgte radioimmunologisch unter Verwendung des gleichen Antikörpers, der zur Bestimmung des Gesamt-T_4 im Rattenserum diente. Die Standardkurve wurde in dem Puffer gelöst, der unter II.4.1. zur Aufnahme des Lyophilisates beschrieben wurde. Die Assayempfindlichkeit lag bei 160 pg/Ansatz, die Intraassayvarianz betrug 5.4 %, die Interassayvarianz 6.1 %. Alle Leberhomogenate wurden im gleichen Ansatz extrahiert und gemessen.

II.4.3. Bestimmung des T_3 im Lebergewebeextrakt

Das T_3 im Lebergewebeextrakt wurde unter Verwendung des gleichen Antikörpers bestimmt, der zur Messung des Gesamt-T_3 im Rattenserum diente. Wie bei der Bestimmung des extrahierten T_4 wurde auch hier die Standardkurve in dem unter II.4.1. beschriebenen Puffer gelöst. Es ergab sich eine Assayempfindlichkeit von 16 pg/Ansatz, eine Intraassayvarianz von 5.2 % und eine Interassayvarianz von 6.3 %. Alle Proben wurden in einem Ansatz bestimmt.

II.4.4. Bestimmung des reduzierten Glutathion im Leberhomogenat

Zur Bestimmung des GSH (oder richtiger: der nicht proteingebundenen Thiolgruppen) im Leberhomogenat diente die Methode nach Beutler et al (1963) und Mitchell et al (1973).
Dabei wurde 1 ml des Leberhomogenates zur Enteiweißung mit 1 ml 4 % Sulfosalicylsäure versetzt und 5 Minuten bei 3000 g zentrifugiert. 0.5 ml des Überstandes ergaben mit 4.5 ml Ellman-Reagenz (0.1 mM Dithiobisnitrobenzoesäure in 0.1 M Natriumphosphatpuffer, nach Ellman, 1959) einen Farbkomplex bei 412 nm, dessen Intensität der GSH-Konzentration der Leberhomogenate proportional war.

II.5. Untersuchung des enzymatischen Abbaus von T_4 zu T_3 in der Lebermikrosomenfraktion

II.5.1. Inkubationsbedingungen

Zur Untersuchung des enzymatischen Abbaus von T_4 zu T_3 wurden pro Ansatz 1.0 mg frisch präparierte und mit dem unter II. 1.3. beschriebenen Homogenisator resuspensierte Lebermikrosomen verwendet. Das Inkubationsmedium war wie folgt zusammengesetzt:
54.4 mmol/l Natriumphosphatpuffer (pH 7.5), 145.4 mmol/l Saccharose, 9.1 mmol/l Tris und 0.45 mmol/l $MgCl_2$ bei einer Temperatur von 37°C. Als Cofaktor und zur Vermeidung von Beeinflussungen der Konversion durch einen unterschiedlichen GSH-Gehalt der einzelnen Rattenlebern wurde außerdem reduziertes Glutathion (5 mmol/l) zugesetzt.
Je ein Aliquot des Inkubationsansatzes wurde sofort sowie 10 Minuten nach Zugabe von 0.1 ml einer T_4-Lösung (in oben beschriebenem Puffer, ohne GSH, jedoch mit Zusatz von 110 mg/l Rinderserumalbumin, Endkonzentrationen 0.12 µmol/l bis 12 µmol/l) entnommen. Die so erhaltenen Proben wurden für mindestens 24 Stunden bei -20°C eingefroren. Die Menge des bei 37°C in 10 Minuten gebildeten T_3 ließ sich aus der Differenz der T_3-Konzentration nach zehnminütiger Inkubation und der zu Reaktionsbeginn berechnen. So wurden mögliche Fehler ausgeschaltet, die durch den T_3-Gehalt der Mikrosomenfraktion bzw. durch Verunreinigungen des zugegebenen T_4 durch T_3 bedingt waren.

II.5.2. Bestimmung des gebildeten T_3 im Inkubat

Die Bestimmung des T_3 erfolgte im Überstand des unter II.5.1 beschriebenen Äthanolextraktes mit Hilfe eines Solid Phase Antikörpers der Fa. Amersham Buchler GmbH & CO KG, Braunschweig (Amerlex T_3 (^{125}J) RIA). Die T_3-Standardkurve wurde im gleichen Puffergemisch hergestellt wie die Proben, im Verhältnis 1 : 2 mit Äthanol versetzt, bei -20°C mindestens 24

Stunden lang eingefroren und zusammen mit den Proben erst kurz vor dem Gebrauch aufgetaut und abzentrifugiert. 25 µl des Überstandes der Proben bzw. der Standards wurden im Assay eingesetzt.
Die Empfindlichkeit des Assays betrug 10 fmol/Ansatz, die Intraassayvarianz 6.4 %, die Interassayvarianz 4.8 %. Die Kreuzreaktion mit T_4, rT_3 bzw. 3,3'-T_2 war geringer als 0.01 %, 0.2 % bzw. 1.0 %.

II.5.3. Bestimmung des freien T_4 im Inkubationsansatz

Zur Bestimmung des freien T_4 im Inkubationsansatz der Konversion von T_4 zu T_3 wurden die unter II.5.1. beschriebenen Inkubationsbedingungen eingehalten. Es wurden jedoch fünfmal so große Volumina angesetzt und die Mikrosomen nach Zugabe der verschiedenen T_4-Konzentrationen sofort bei 37°C abzentrifugiert (105000 g, 30 Minuten).
Der so gewonnene Überstand wurde in jeweils ein Glasröhrchen überführt, in das ein Dialysesäckchen mit 0.8 ml Inkubationsmedium (hormon- und albuminfrei) plaziert wurde. Nach 24-stündiger Inkubation (37°C) wurde die T_4-Konzentration innerhalb des Dialysesäckchens, die die Konzentration an freiem T_4 repräsentiert, unter Verwendung eines Solid Phase Antikörpers der Fa. Corning Medical (Medfield, Massachussetts, USA) radioimmunologisch bestimmt. Die T_4-Standardkonzentrationen wurden in dem gleichen Puffergemisch gelöst wie die Proben, aus denen jeweils 25 µl in den Assay eingesetzt wurden.
Die Assayempfindlichkeit lag bei 100 fmol/Ansatz, die Kreuzreaktion mit anderen Thyroninen war unter den gegebenen Bedingungen zu vernachlässigen. Die Intraassayvarianz lag bei 5.9 %, die Interassayvarianz bei 6.2 %.

II.6. Untersuchung der Bindung des reverse T_3 an die Lebermikrosomenfraktion

II.6.1. Inkubationsbedingungen

Die Untersuchungen zur Bindung des rT_3 an die Lebermikrosomenfraktion wurden bei 4°C in Polyallomerröhrchen der Fa. Contron Analytic, München, in 5.5 ml des folgenden Inkubationsmediums durchgeführt: 54.4 mmol/l Na_2HPO_4, 145.5 mmol/l Saccharose, 0.1 mmol/l Tris und 0,45 mmol/l $MgCl_2$, pH 7.5 . Zunächst wurde das markierte rT_3 (etwa 40 nCi pro 0.5 ml, die im Inkubationsmedium unter Zusatz von 110 mg Rinderserumalbumin pro Liter gelöst waren) in den obenerwähnten Polyallomerröhrchen vorgelegt und die Aktivität der Proben gezählt. Die Endkonzentrationen des rT_3 reichten von 1.4 nmol/l bis 2.8 µmol/l. Anschließend wurden die Proben bis zu 5.4 ml mit Inkubationsmedium (4°C) aufgefüllt und zum Schluß 0.1 ml der Mikrosomenfraktion (0.5 - 0.8 mg Protein) zugefügt. Nach einer Inkubationsdauer von 5 Minuten bei 4°C wurden die Mikrosomen abzentrifugiert (105000 g, 30 Minuten), die ^{125}-Radioaktivität des Sediments gemessen und die Menge des gebundenen und des freien rT_3 berechnet.

II.6.2. Mathematische Auswertung der Bindungsversuche

Die Verhältnisse bei der Bindung einer Substanz H an den Rezeptor R lassen sich durch das Massenwirkungsgesetz beschreiben:

$$H + R \rightleftharpoons HR \qquad (1)$$

H entspricht der Konzentration des freien Substrates, R der Konzentration der nicht besetzten Rezeptorstellen und HR der Konzentration der besetzten Rezeptorstellen. Im Massenwirkungsgesetz ist die Dissoziationskonstante K_d als diejenige Konzentration der Substanz H definiert, bei der die Hälfte der verfügbaren Rezeptorstellen besetzt ist, d.h. wenn $R = HR$ ist.

$$\frac{H \cdot R}{HR} = K_d \qquad (2)$$

Die Summe der freien und besetzten Rezeptorstellen entspricht der maximalen Bindungskapazität n :

$$n = R + HR \qquad (3)$$

Die Gleichungen (2) und (3) lassen sich zu Gleichung (4) kombinieren:

$$\frac{HR}{H} = \frac{n}{H + K_d} \qquad (4)$$

Zur graphischen Auswertung von Bindungsdaten kann Gleichung (4) in Gleichung (5) und damit in eine Geradengleichung umgewandelt werden:

$$\frac{HR}{H} = -\frac{1}{K_d} \cdot HR + \frac{n}{K_d} \qquad (5)$$

Wenn man den Quotienten HR/H auf der Ordinate und die Konzentration des gebundenen Substrates auf der Abszisse aufträgt, so erhält man den "Scatchard Plot". Dabei ergibt der Schnittpunkt der Geraden mit der x-Achse die maximale Bindungskapazität n, der Schnittpunkt mit der y-Achse den Quotienten n/K_d.
Für den Fall, daß die Dissoziationskonstante K_d so groß ist, daß in Gleichung (4) bei allen untersuchten Konzentrationen von H praktisch keine Änderung des Nenners auftritt, liegt eine unspezifische Bindung vor, die sich durch niedrige Affinität und nahezu unbegrenzte Kapazität auszeichnet. Gleichung (4) läßt sich für diesen Fall zu Gleichung (6) vereinfachen:

$$\frac{HR}{H} = \frac{n}{K_d} = K \qquad \text{da } H \ll K_d \qquad (6)$$

Der Quotient n/K_d läßt sich zu einer einzelnen Konstante K zusammenfassen. Das bedeutet, daß das Verhältnis von gebundener zu freier Substanz unabhängig von der Menge der zugegebenen Substanz gleich bleibt.

Für eine unspezifische Bindung zeigt der Scatchard Plot eine Parallele zur x-Achse, da HR/H = K ist.
Die Bindung des rT_3 an die Lebermikrosomenfraktion stellte sich im Scatchard Plot als hyperbolische Kurve dar, die bei hohen rT_3-Konzentrationen nahezu parallel zur x-Achse verlief. Somit konnte von dem Vorhandensein sowohl spezifischer als auch unspezifischer Bindungsstellen ausgegangen werden. Das flache Kurvenstück wurde auf die y-Achse extrapoliert, sodaß die entstehende Gerade rechnerisch von der Gesamtbindungskurve abgezogen werden konnte. Danach blieb im Scatchard Plot eine Gerade übrig, was auf nur eine spezifische Bindungsstelle schließen läßt.
Aus dieser Geraden konnten die maximale Bindungskapazität (n) der Mikrosomenfraktion für rT_3 und die Dissoziationskonstante (K_d) ermittelt werden.

II.7. Statistische Auswertung der Meßergebnisse

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte $\pm$ SEM dargestellt. Die Signifikanz der U nterschiede der Mittelwerte wurde mit Hilfe des Rangfolgetestes nach Wilcoxon überprüft. Dabei wurden die Daten der Kontrollgruppe jeweils mit denen einer Fastengruppe verglichen.

III. Ergebnisse

III.1. Der Einfluß des Fastens auf das Körper- und Lebergewicht, die Proteinkonzentration der Rattenlebermikrosomenfraktion sowie das reduzierte Glutathion im Leberhomogenat

III.1.1. Körpergewicht

Das Ausgangsgewicht der verwendeten Ratten betrug im Mittel etwa 400 g, es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kollektiven (Tab. 1).
Tabelle 1 zeigt, daß sich das durchschnittliche Körpergewicht während des zehntägigen Fastens um etwa 25 % verringerte.

Dauer des Fastens (Tage)	0	1	3	6	10
Ausgangsgewicht (g)	396 ± 18 (14)	405 ± 20 (12)	404 ± 19 (12)	411 ± 17 (12)	401 ± 24 (12)
Körpergewicht (g)	413 ± 18 (14)	374 ± 17 (12)	370 ± 18 (12)	336 ± 15 (12)	307 ± 18 (12)
Lebergewicht (g)	18.4 ± 0.6 (14)	14.6 ± 0.7 (12)	12.7 ± 0.5 (12)	10.3 ± 0.3 (12)	9.2 ± 0.6 (12)
relatives Lebergewicht (% des Körpergewichtes)	4.5 ± 0.2 (14)	4.0 ± 0.2 (12)	3.5 ± 0.2 (12)	3.0 ± 0.1 (12)	3.0 ± 0.2 (12)
Proteinkons. der Mikrosomenfraktion (mg/g Leber)	19.5 ± 1.7 (8)	17.5 ± 0.2 (6)	12.9 ± 1.7 (6) ×	14.9 ± 1.5 (6)	14.1 ± 2.1 (6)
red. Glutathion (µmol/g Leber)	5.0 ± 0.6 (6)	1.7 ± 0.2 (6) ××	2.4 ± 0.3 (6) ××	3.1 ± 0.7 (6)	3.6 ± 0.5 (6)

Tabelle 1: Ausgangsgewicht, Änderung des Körpergewichts, des Lebergewichts, des relativen Lebergewichts, der Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion sowie des GSH im Lebergewebe ($\bar{x}$ ± SEM, × = $p<0.05$, ×× = $p<0.01$, n in Klammern)

Der Gewichtsverlust war aber nicht linear, sondern verminderte sich mit der Dauer des Fastens (Abb. 3). Die Abnahme des Körpergewichts pro 24 h betrug nach 6 - 10 Tagen nur noch ein Drittel des Gewichtsverlustes am 1. Tag (27 g).

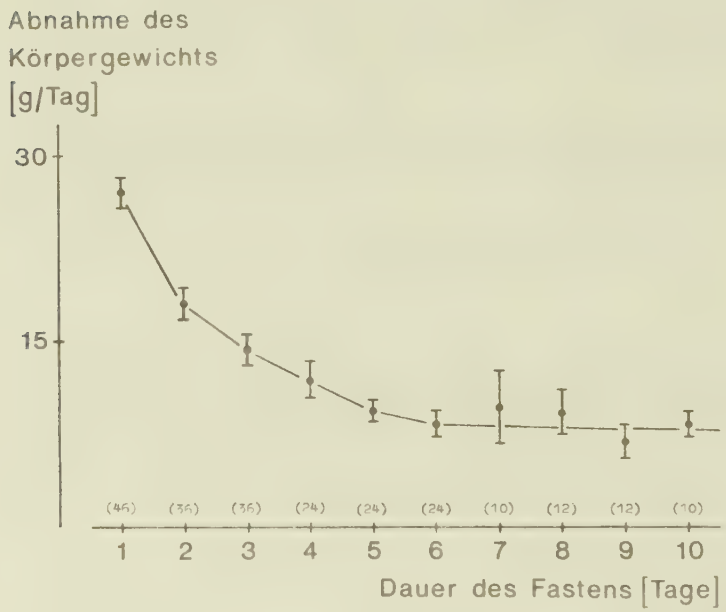

Abb. 3: Abnahme des Körpergewichts im Verlauf der Fastenperiode ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils in Klammern)

III.1.2. Lebergewicht und relatives Lebergewicht

Auch das Lebergewicht nahm während des Fastens zunächst rasch, dann langsamer ab. Es fiel allerdings stärker als das Körpergewicht, sodaß sich nach zehn Fastentagen eine signifikante Verminderung des relativen Lebergewichts um etwa 30 % gegenüber dem der gefütterten Tiere ergab (Tab. 1).

III.1.3. Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion

Die Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion zeigte nach drei Tagen einen signifikanten Abfall auf etwa 65 % des Kontrollwertes und stieg danach geringfügig wieder an (Abb. 4).

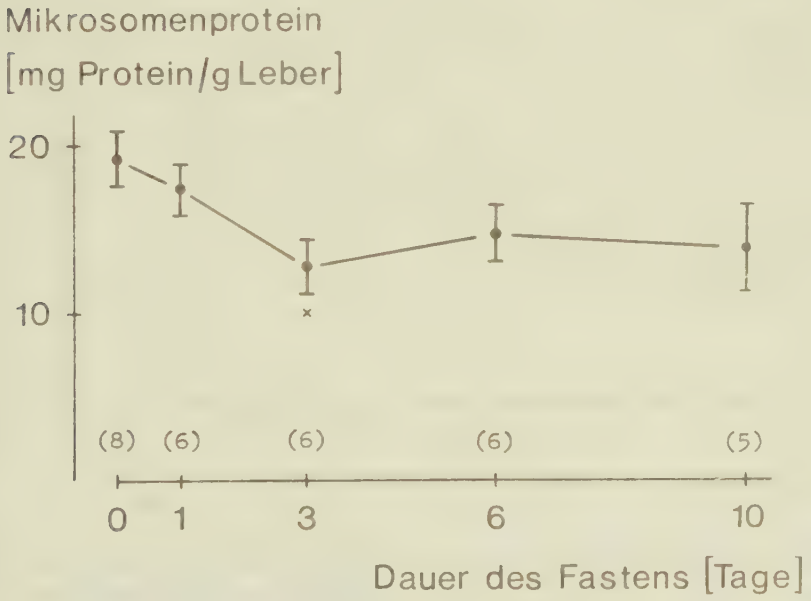

Abb.4: Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion im Verlauf des Fastens ($x \pm SEM$, n jeweils in Klammern, x = $p<0.05$ gegen den Kontrollwert)

III.1.4. Reduziertes Glutathion im Leberhomogenat

Abb. 5 zeigt für die Konzentration des reduzierten Glutathions (richtiger: der nicht proteingebundenen SH-Gruppen) einen zweiphasischen Kurvenverlauf. Schon nach eintägigem Fasten war es signifikant auf etwa 35 % der Kontrollen abgesunken und stieg danach langsam wieder bis auf ungefähr 70 % an (Tab. 1).

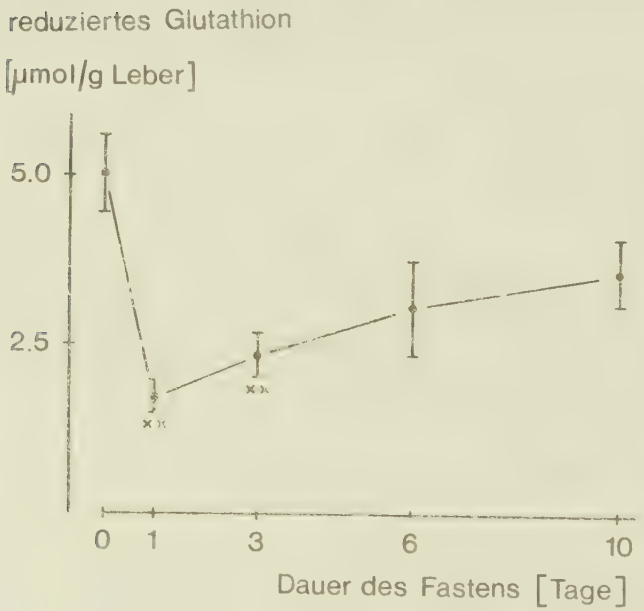

Abb. 5: Konzentration des reduzierten Glutathions in der Leber im Verlauf der Fastenperiode ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils = 6, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ gegen den Kontrollwert)

III.2. Der Einfluß des Fastens auf die Konzentrationen der Jodthyronine und des TSH

III.2.1. TSH im Serum

Das TSH im Serum der Ratten fiel während der Fastenperiode kontinuierlich ab (vom 3. Tag an signifikant, $p < 0.05$). Nach 10 Tagen war die Konzentration bis auf ca. 40 % des Ausgangswertes abgesunken (Tab. 2, Abb. 6).

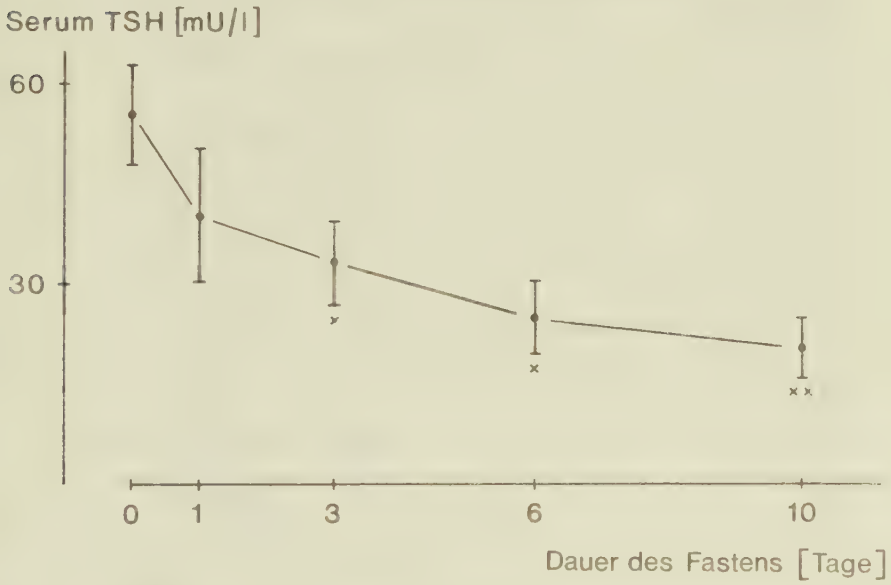

Abb. 6: Konzentration des TSH im Serum im Verlaufe des Fastens ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils = 6, x = $p < 0.05$, xx = $p < 0.01$ gegen den Kontrollwert)

Tabelle 2: Konzentrationen der Jodthyronine im Serum und Gewebe und des TSH im Serum im Verlauf des Fastens ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils in Klammern, $\times = p < 0.05$, $\times\times = p < 0.01$ gegen den Kontrollwert)

Dauer des Fastens (Tage)	0	1	3	6	10
Serum-TSH (mU/l)	55 ± 7 (6)	40 ± 10 (6)	33 ± 6 (6) ×	25 ± 3 (6) ×	21 ± 5 (6) ××
Gesamt-T_4 (µg/dl Serum)	5.4 ± 0.3 (14)	5.0 ± 0.2 (12)	3.2 ± 0.3 (12) ××	3.2 ± 0.2 (12) ××	3.3 ± 0.4 (11) ××
freies T_4 (pg/ml Serum)	8.7 ± 1.1 (14)	8.8 ± 1.1 (12)	6.5 ± 1.2 (12)	5.0 ± 0.7 (12) ×	3.1 ± 0.6 (11) ××
Leber-T_4 (ng/g Leber)	17.7 ± 1.4 (6)	16.7 ± 1.7 (6)	11.9 ± 1.3 (6) ×	8.6 ± 1.3 (6) ×	6.5 ± 0.8 (6) ×
Gesamt-T_3 (ng/dl Serum)	57 ± 3 (14)	40 ± 2 (12) ××	40 ± 4 (12) ××	36 ± 4 (12) ××	36 ± 5 (11) ××
freies T_3 (pg/ml Serum)	3.3 ± 0.2 (14)	2.8 ± 0.1 (12) ×	2.6 ± 0.1 (12) ×	2.3 ± 0.2 (12) ×	1.6 ± 0.3 (11) ××
Leber-T_3 (ng/g Leber)	2.6 ± 0.3 (6)	1.9 ± 0.3 (6)	2.3 ± 0.5 (6)	1.5 ± 0.3 (6) ×	1.0 ± 0.1 (6) ××
Serum-rT_3 (ng/dl Serum)	19.5 ± 1.2 (8)	16.7 ± 2.7 (6)	4.8 ± 1.9 (6) ××	9.8 ± 2.8 (6) ×	13.4 ± 4.6 (6)

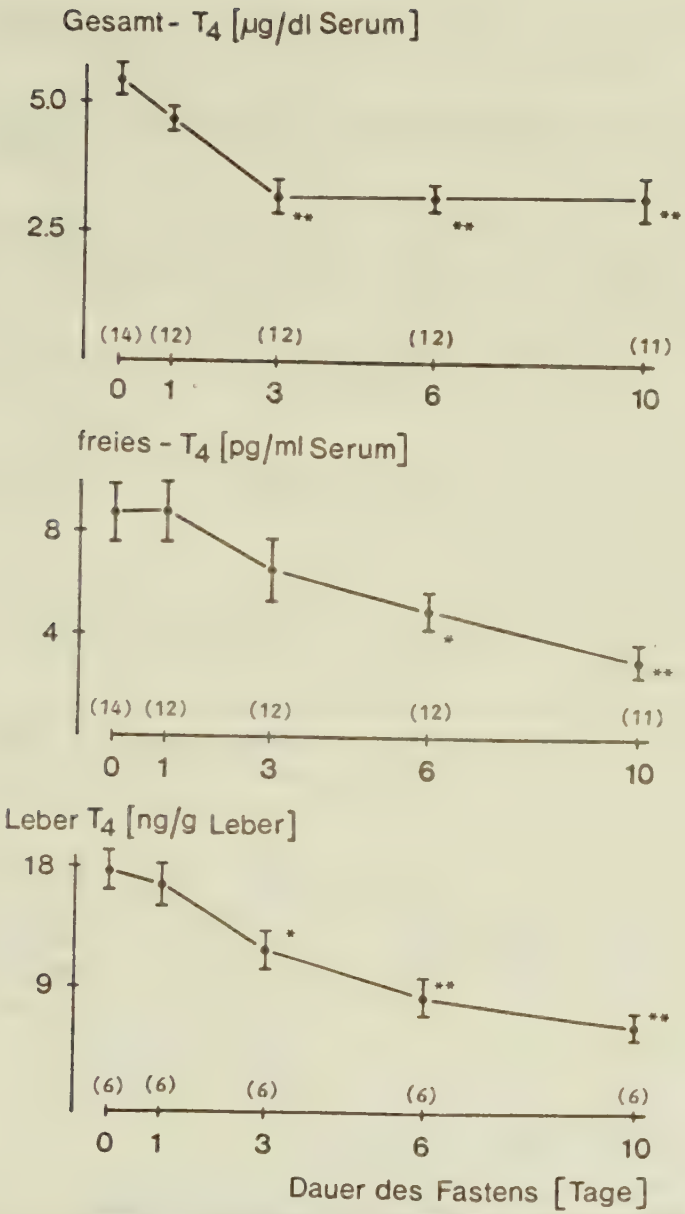

Abbildung 7: Gesamt-T_4 und freies T_4 im Serum und T_4-Konzentration im Lebergewebe im Verlaufe des Fastens. ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils in Klammern, * = $p<0,05$, ** = $p<0,01$)

III.2.2. Gesamt-T_4 und freies T_4 im Serum, T_4-Konzentration im Lebergewebe

Das Gesamt-T_4 im Serum war nach dreitägigem Hungern signifikant um 40 % vermindert und änderte sich in der Folgezeit nicht mehr.
Das freie T_4 im Serum zeigte dagegen nach einem Tag noch keine Veränderung. Anschließend kam es ebenfalls zu einem Abfall des FT_4 (signifikant ab dem 6. Tag): nach 10 Tagen betrug die Konzentration nur noch etwa 35 % der Kontrolle.
Das T_4 im Lebergewebe verringerte sich während des Fastens nahezu kontinuierlich auf ebenfalls ca. 35 % des Ausgangswertes (Tab. 2, Abb. 7).

III.2.3. Gesamt-T_3 und freies T_3 im Serum, T_3-Konzentration im Lebergewebe

Die Messung des Gesamt-T_3 im Serum ergab nach eintägigem Hungern einen signifikanten Abfall um etwa 30 %, danach ließen sich wie beim Gesamt-T_4 keine weiteren Veränderungen mehr nachweisen.
Dagegen fiel das freie T_3 im Serum während der zehntägigen Fastenperiode nahezu kontinuierlich bis auf ca. 50 % der Konzentration der Kontrollen ab. Dabei waren die Werte bereits nach einem Tag auf dem 5 % - Niveau signifikant niedriger.
Auch die Bestimmung des T_3 im Lebergewebe ergab nach einem Hungertag eine signifikante Verminderung der Konzentration dieses Hormons. Während der folgenden Tage sank das Leber-T_3 weiter ab; nach 10 Tagen konnten nur noch etwa 40 % der Ausgangskonzentration im Gewebe nachgewiesen werden (Tab. 2, Abb. 8).

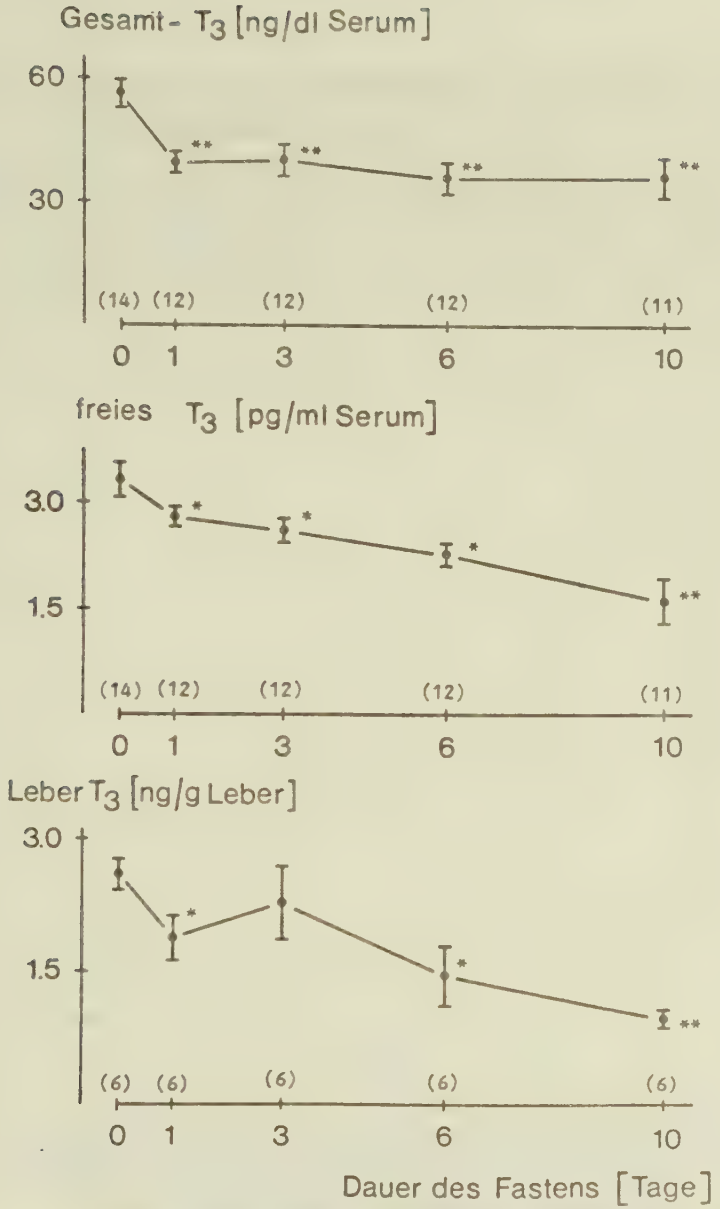

Abbildung 8 : Gesamt-T_3 und freies T_3 im Serum und T_3-Konzentration im Lebergewebe im Verlaufe des Fastens. ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils in Klammern, * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$)

III.2.4. Reverse T_3 im Rattenserum

Die rT_3-Konzentration im Serum zeigte im Gegensatz zu den bisher besprochenen Hormonparametern einen biphasischen Verlauf. Nach einem signifikanten Abfall bis auf etwa 25 % des Ausgangswertes nach dreitägigem Fasten stieg sie bis zum zehnten Tag wieder auf ca. 70 % an und unterschied sich nicht mehr signifikant von der der Kontrollen (Tab. 2, Abb. 9).

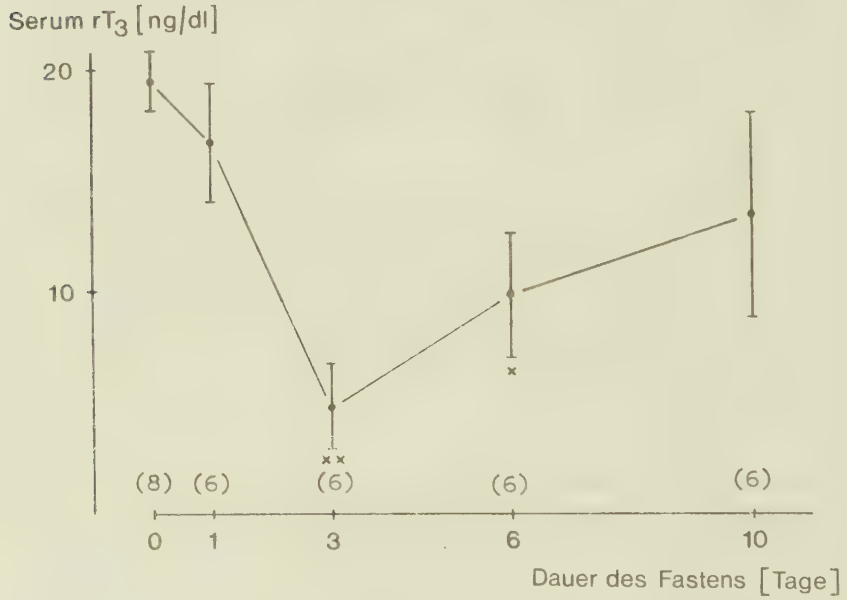

Abb. 9: reverse T_3-Konzentration im Serum im Verlauf des Fastens ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils in Klammern, $\times = p < 0.05$, $\times\times = p < 0.01$ gegen den Kontrollwert)

III.3. Der Einfluß des Fastens auf die enzymatische Dejodinierung des T_4 zu T_3

Bei den Untersuchungen zum enzymatischen Abbau des T_4 zu T_3 wurde die Menge des gebildeten T_3 pro mg Mikrosomenprotein und Minute bei verschiedenen Thyroxinkonzentrationen bei 37°C in Anwesenheit von 0.5 mg Mikrosomenprotein und 5 mmol/l GSH bestimmt. Das reduzierte Glutathion wurde zum Versuchsansatz hinzugefügt, um fasteninduzierte Unterschiede in der GSH-Konzentration des Inkubats zu vermeiden, da Voruntersuchungen

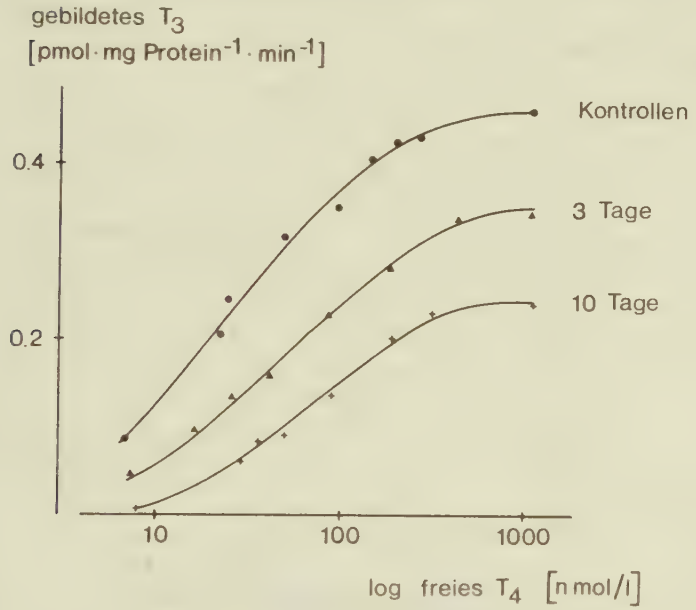

Abb. 10: Repräsentative Dosis-Wirkungskurven für die Konversion von T_4 zu T_3 von gefütterten Ratten und von solchen, die 3 bzw. 10 Tage gefastet hatten. (0.5 mg Mikrosomenprotein/Ansatz, 5 mmol GSH/l, pH 7.5, 37°C)

gezeigt hatten, daß die GSH-Konzentration in der Leber während einer zehntägigen Fastenperiode gerichteten Schwankungen unterliegt (s. III.1.4.). Abbildung 10 zeigt repräsentative Dosis-Wirkungskurven für die Konversion von T_4 zu T_3 in Anwesenheit unterschiedlicher Substratkonzentrationen, die in Form des gemessenen freien T_4 im Inkubat angegeben werden, für gefütterte Tiere und für solche, die 3 bzw. 10 Tage gefastet hatten. Aus dieser Abbildung ist ersichtlich, daß über den gesamten Bereich der verwendeten Substratkonzentration pro mg Mikrosomenprotein von den fastenden Ratten weniger T_3 aus T_4 gebildet wurde. In Abb. 11 sind die Daten der Abb. 10 im Lineweaver-Burk-Plot dargestellt. Aus der Abbildung geht her-

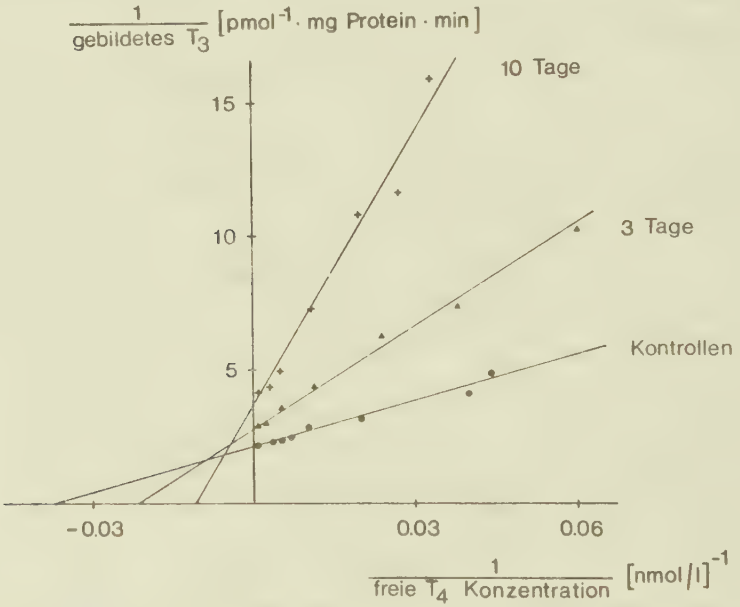

Abb. 11: Lineweaver-Burk-Plots der in Abb. 10 dargestellten Dosiswirkungskurven unter Verwendung des freien T_4 als Substratkonzentration

vor, daß mit zunehmender Dauer des Fastens die V_{max} ab- und die K_m zunahm. Wie aus Abbildung 12 ersichtlich ist, war die mittlere maximale Reaktionsgeschwindigkeit nach drei Tagen signifikant um etwa 45 % gegenüber der Kontrolle vermindert.

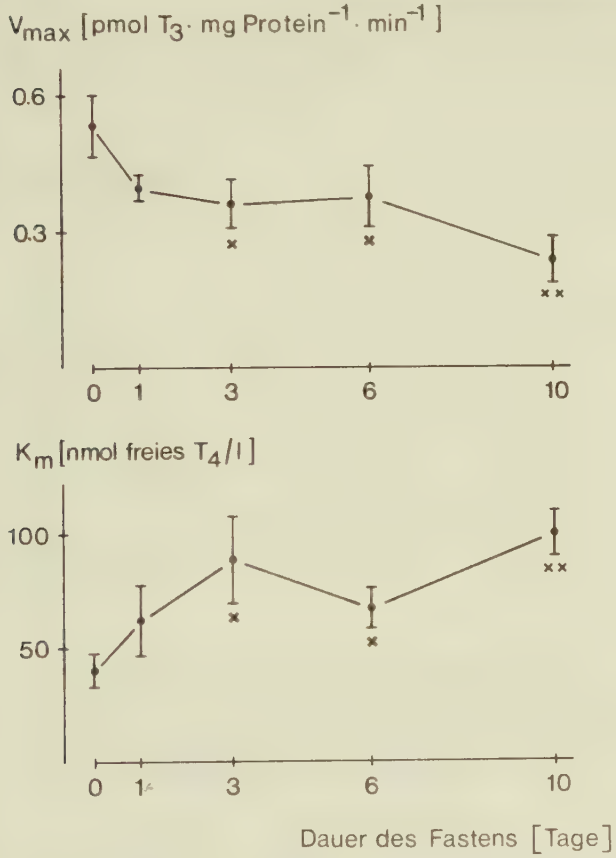

Abb. 12: V_{max} und K_m-Werte für die Konversion des T_4 zu T_3 im Verlaufe des Fastens ($\bar{x} \pm$ SEM, x = $p < 0.05$, xx = $p<0.01$ gegen den Kontrollwert)

Nach 10 Tagen war die V_{max} um weitere 20 % abgesunken. Gleichzeitig stieg die Michaelis-Menthen-Konstante, die in der Form des gemessenen freien T_4 angegeben wird, nach drei Tagen signifikant um ungefähr 100 %, nach 10 Tagen auf 250 % des Kontrollwertes an (Tabelle 3, Abb. 12)

Dauer des Fastens (Tage)	0	1	3	6	10
V_{max} (pmol T_3/mg/min)	0.53 ± 0.07 (6)	0.40 ± 0.03 (5)	0.36 ± 0.05 (6) *	0.38 ± 0.07 (6) *	0.24 ± 0.05 (5) **
K_m (nmol FT_4/l)	40.4 ± 7.3 (6)	62.3 ± 15.7 (5)	88.6 ± 18.7 (6) *	67.5 ± 8.8 (6) *	100.0 ± 10.2 (5) **

Tabelle 3: Einfluß des Fastens auf die V_{max} und K_m der enzymatischen Dejodination des T_4 zu T_3 in der Mikrosomenfraktion der Leber ($\bar{x}$ ± SEM, n jeweils in Klammern, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ gegen den Kontrollwert)

III.4. Der Einfluß des Fastens auf die Bindung des rT_3 an die Lebermikrosomenfraktion

In Abb. 13 sind repräsentative Ergebnisse für die Bindung des rT_3 an die Lebermikrosomenfraktion als Scatchard Plot dargestellt, d.h. die Menge des gesamt gebundenen rT_3 wurde gegen den Quotienten aus gebundenem und freiem rT_3 aufgetragen. Dabei ergaben sich hyperbolische Kurvenverläufe.

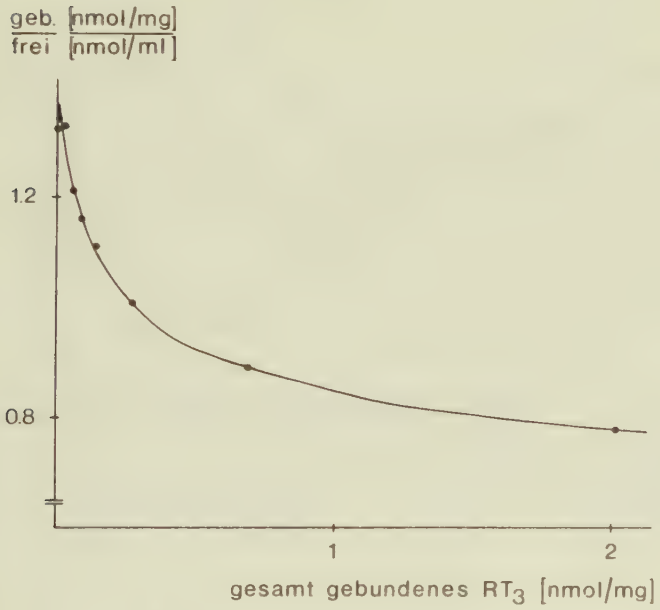

Abb. 13: Repräsentativer Scatchard Plot der Gesamtbindung von rT_3 pro mg Mikrosomenprotein

Nach Subtraktion der unspezifischen Bindung resultierten Geraden. Dies zeigt, daß nur eine spezifische Bindungsstelle an der Mikrosomenfraktion für rT_3 existiert (Abb. 14)

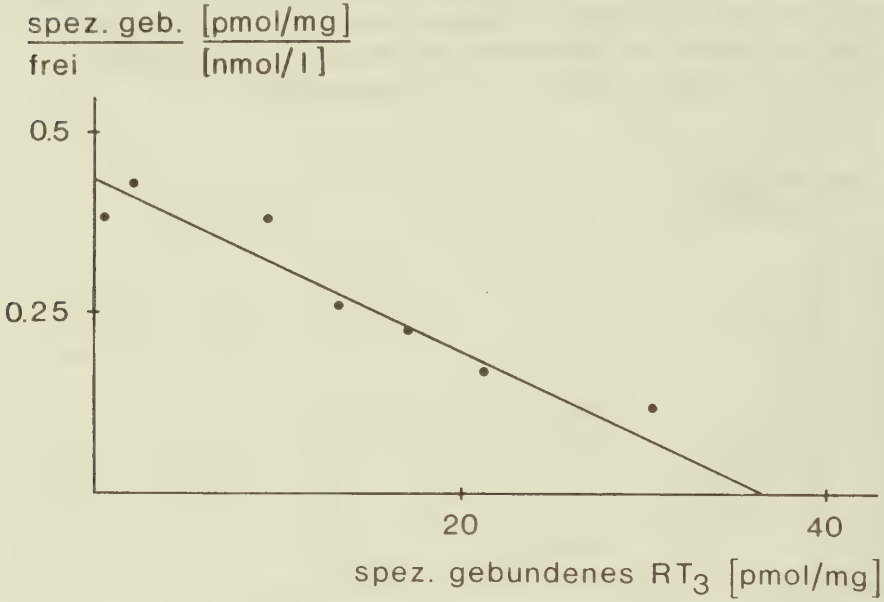

Abb. 14: Repräsentativer Scatchard Plot der spezifischen Bindung von rT_3 nach Abzug der unspezifischen Bindung

In Tabelle 4 sind die maximale Bindungskapazität und die Dissoziationskonstante für die Bindung von rT_3 an die Mikrosomenfraktion für die unterschiedlich behandelten Ratten angegeben. Sie zeigt, daß das Fasten keinen Einfluß auf die

Bindung des rT_3 an die Mikrosomenfraktion hatte, weder auf die maximale Bindungskapazität, noch auf die Dissoziationskonstante. Somit ergibt sich kein Anhalt für eine Veränderung der Menge der 5'-Dejodinase-Moleküle pro mg Mikrosomenprotein infolge des Fastens.

Dauer des Fastens (Tage)	0	1	3	6	10
Maximale Bindungskapazität (pmol/mg Protein)	22 ± 3 (6)	25 ± 4 (6)	22 ± 2 (6)	20 ± 5 (4)	19 ± 6 (3)
Dissoziationskonstante (nmol/l)	74 ± 17 (6)	76 ± 12 (6)	63 ± 4 (6)	76 ± 11 (4)	72 ± 10 (3)

Tabelle 4: Einfluß des Fastens auf die maximale Bindungskapazität und die Dissoziationskonstante der spezifischen Bindung von rT_3 an die Mikrosomenfraktion der Leber ($\bar{x} \pm$ SEM, n jeweils in Klammern)

IV. Diskussion

Im Verlauf der zehntägigen Fastenperiode nahmen die Versuchstiere zunächst schnell, dann immer langsamer ab. Diese Beobachtung steht in Einklang mit Erfahrungen bei fastenden Menschen: Nulldiät zur Gewichtsreduktion führt nach anfänglichen Erfolgen bald zu einer stark verminderten Gewichtsabnahme (z. B. Moore et al, 1980). Dies wird bei einigen Autoren auf eine Verminderung des Grundumsatzes und in Verbindung damit auf eine Hypothyreose zurückgeführt (z. B. Grant et al, 1978).

Das Lebergewicht nahm, prozentual ausgedrückt, noch etwas stärker ab als das Körpergewicht, sodaß sich auch das relative Lebergewicht verminderte. Damit wurde der Anteil des Gewebes relativ stark reduziert, welches nach Chopra (1977) die höchste konvertierende Aktivität aufweist.
Dieser Verlauf erklärt sich vor allem aus der Kohlenhydratspeicherfunktion der Leber: Normalerweise lagert die Leber 10 - 20 % ihres Gewichts als Reserveglykogen ein. Im Hungerzustand wird das Glykogen mobilisiert und als freie Glucose dem Stoffwechsel zur Verfügung gestellt. Dadurch verringert sich dieser Anteil des Lebergewichts auf bis zu 0.1 % (Buddecke, 1977). Berechnet man das relative Lebergewicht von Kontrollratten nach Abzug des Reserveglykogens, so ergibt sich ein relatives Lebergewicht von 4 - 3.5 %. Dieser Wert entspricht dem von Ratten nach ein- bis dreitägigem Fasten (s. Tabelle 1), sodaß die Verminderung des relativen Lebergewichts in dieser Zeit in erster Linie auf das Verbrauchen der Glykogenreserve zurückgeführt werden kann.

Zusätzlich unterliegt die Leber beim Fasten genauso wie die meisten anderen Organe dem Abbau von Proteinen zur Gluconeogenese. Die Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion bezogen auf 1 g Leber war nach drei Tagen signifikant auf 65 %

der Kontrollwerte abgesunken und stieg danach nur unwesentlich wieder an. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von Balsam et al (1979), die nach allerdings nur zweitägigem Fasten keine signifikanten Unterschiede des Gesamtproteingehalts pro g Lebergewebe nachweisen konnten. Von Schwartz et al (1980) wurde bei der Berechnung der Menge des Proteins pro mg DNS eine signifikante Abnahme bei fünftägigem Fasten ermittelt, die sich allerdings vorwiegend durch einen Anstieg des DNS-Gehalts pro g Lebergewebe erklären läßt.

Die nicht proteingebundenen SH-Gruppen in der Leber stellen hauptsächlich reduziertes Glutathion (GSH) dar und werden daher im weiteren vereinfachend so bezeichnet.
Die mittlere Gewebekonzentration des GSH stimmte bei den Kontrollratten mit 5.0 µmol/g Leber gut mit Werten überein, die Harris et al (1979), Chopra (1980) sowie Lauterburg und Mitchell (1981) ermittelten.
Schon nach einem Fastentag kam es zu einer erheblichen Abnahme des reduzierten Glutathions der Leber auf etwa 1/3 des Ausgangswertes. Anschließend stieg es wieder an und lag nach zehn Tagen bei etwa 70 % der Ausgangskonzentration. Harris et al (1979), Chopra (1980) sowie Lauterburg und Mitchell (1981) berichteten über ähnliche Verläufe des Leber-GSH. Letztere Autoren beschrieben als Ursache für die anfängliche Erniedrigung einen stark erhöhten GSH-Verbrauch, der eine ebenfalls gesteigerte GSH-Synthese während des Fastens überdeckt.
Chopra (1980) erklärte den Wiederanstieg des Leber-GSH ab dem dritten Hungertag durch das steigende Angebot an SH-gruppenhaltigen Aminosäuren, die während des Fastens infolge der katabolen Stoffwechsellage der Tiere mobilisiert werden. Für diese Theorie sprechen auch Wiederfütterungsversuche von Tavin et al (1981), bei denen sich durch Proteingabe größere Anstiege des SH-Cofaktors erzielen ließen als durch Glucosegabe.

Die Konzentrationen des Gesamt-T_4, des Gesamt-T_3 und des TSH der Kontrolltiere lagen mit 5.4 µg/dl, 57 ng/dl bzw. 55 mU/l jeweils im Bereich der in der Literatur beschriebenen Werte (Kaplan und Utiger, 1978b; Harris et al, 1978a, 1978b; Chopra, 1980; Van der Heide und Ende-Visser, 1980; Oppenheimer und Schwartz, 1980; Heinen et al, 1981). Im Gegensatz zu vielen anderen Autoren, die keine oder keine wesentlichen rT_3-Konzentationen im Rattenserum messen konnten (Kaplan et al, 1977; Kaplan und Utiger, 1978b), fanden sich bei den vorliegenden Untersuchungen in Übereinstimmung mit Van der Heide und Ende-Visser (1980) und Heinen et al (1981) rT_3-Konzentrationen, die in etwa den Konzentrationen beim Menschen entsprechen.
Auch die freien T_4-Konzentrationen liegen in der gleichen Größenordnung wie die des Menschen (Herrmann et al 1969, 1979), und die mittleren Serumkonzentrationen des freien T_4 bzw. freien T_3 stimmen gut mit Werten überein, die Harris et al (1978a) und Oppenheimer und Schwartz (1980) für das Rattenserum ermittelten.
Die mittlere T_4-Konzentration im Lebergewebe der Kontrollratten entsprach den Ergebnissen anderer Autoren. Henninger et al (1962) fanden mit Hilfe der Equilibriumsmethode eine T_4-Konzentration von 11.2 ng/g Leber. Auch die Ergebnisse von Heinen et al (1981) und Mosny et al (1981) stimmen mit ca. 16.5 ng/g Leber mit den jetzigen Resultaten gut überein. Ebenso unterschieden sich die T_3-Konzentrationen im Lebergewebe nicht wesentlich von denen anderer Autoren (Takaishi et al, 1978; Heinen et al, 1981; Mosny et al, 1981).

Das TSH im Serum zeigte im Verlauf der Fastenperiode einen nahezu kontinuierlichen Abfall bis auf etwa 40 % der Kontrollen. Schon 1951 kam d'Angelo zu ähnlichen Ergebnissen, als er mit einem Bioassay nicht nur eine verminderte thyreotrope Aktivität im Serum fastender Ratten, sondern auch eine geringere Höhe des Schilddrüsenfollikelepithels dieser Tiere im Vergleich zu den Kontrolltieren nachwies. Vergleichbare Er-

gebnisse für das Ratten-TSH lieferten auch Harris et al (1978a) und Bavli (1980).

Das TSH ist das übergeordnete Steuerhormon für die Hormonproduktion der Schilddrüse. Ein Abfall des Serum-TSH müßte daher eine Verminderung der Thyroxinproduktion dieses Organs und damit auch der T_4-Konzentration im Serum nach sich ziehen. In Übereinstimmung mit diesen Überlegungen fand sich bei den fastenden Ratten ab dem dritten bzw. sechsten Tag ein signifikanter Abfall des Gesamt-T_4 und des freien T_4, der auch schon von Harris et al (1978a) sowie von Oppenheimer und Schwartz (1980) beschrieben wurde.
Die Serumkonzentrationen des Gesamt-T_3 und des frei verfügbaren T_3 hängen dagegen nur zum geringen Teil von der thyreoidalen Hormonproduktion ab, da ca. 70 % des im Körper vorhandenen T_3 aus der peripheren Dejodination des Thyroxins stammen (Abrams und Larsen, 1973). Der in der vorliegenden Untersuchung während des Fastens nachgewiesene Abfall des Gesamt-T_3 und des freien T_3 im Serum (signifikant jeweils nach einem Fastentag) muß somit zumindest teilweise auf eine Verminderung der extrathyreoidalen Konversion von T_4 zu T_3 zurückgeführt werden. Über eine ähnliche Verminderung des Gesamt- und des freien T_3 im Serum fastender Ratten berichteten auch Harris et al (1978a) und Oppenheimer und Schwartz (1980).
Die in der vorliegenden Untersuchung erstmals gemessene Abnahme der Serum-rT_3-Konzentration, die am dritten Tag statistisch signifikant war, muß nahezu vollständig aus einer Beeinträchtigung der peripheren Dejodination resultieren, da das reverse T_3 fast ausschließlich durch extrathyreoidale Konversion von T_4 zu T_3 entsteht (Abrams und Larsen, 1973).

Von einer Verminderung der Schilddrüsenhormone im Serum kann man allerdings nicht auf einen analogen Verlauf der Gewebekonzentrationen schließen, da sich auch die Passage der Hormone durch die Zellmembran im Verlauf der Fastenperiode ändern könnte. So ergab sich die Notwendigkeit zur Bestimmung

der Schilddrüsenhormone im Lebergewebe.
Die vorliegenden Ergebnisse zeigen erstmals, daß sowohl das Leber-T_4 als auch die Leber-T_3-Konzentration im Verlauf des Fastens signifikant abnehmen. Dabei sind die prozentualen Verminderungen des freien T_4 im Serum und des Leber-T_4 bzw. des freien T_3 im Serum und des Leber-T_3 jeweils in der gleichen Größenordnung, sodaß sich aus diesen Untersuchungen kein Hinweis auf eine Behinderung der Passage der Hormone durch die Zellmembran ableiten läßt. Diese Resultate stehen in einem gewissen Gegensatz zu der Arbeit von Jennings et al (1979), die eine Beeinflussung der T_4-Passage durch die Zellmembran während des Fastens vermutet hatten.

Während die Verminderung des T_4 im Serum und im Gewebe leicht auf eine verringerte TSH-Stimulation der Schilddrüse zurückgeführt werden kann, müssen für die Abnahme des Serum- und Gewebe-T_3 bzw. des Serum-rT_3 - wie schon oben ausgeführt - vorwiegend extrathyreoidale Mechanismen diskutiert werden. Grundsätzlich läßt sich die Abnahme der Konzentration eines Hormons im Serum und im Gewebe entweder durch eine verminderte Produktions- oder durch eine beschleunigte Eliminationsgeschwindigkeit erklären.
Ein beschleunigter Abbau der beiden Trijodthyronine als Ursache für die Abnahme ihrer Konzentrationen ist aus folgendem Grund unwahrscheinlich:
Man nimmt an, daß die 5'-Dejodinase nicht nur T_4 zu T_3, sondern auch rT_3 zu 3,3'-T_2 dejodiniert bzw. die 5-Dejodinase gleichzeitig T_4 zu rT_3 und T_3 zu 3,3'-T_2 abbaut. Daher müßten nicht nur für den Abbau von T_3 und rT_3, sondern auch für ihre Produktion aus T_4 erhöhte Geschwindigkeiten gefordert werden.

Die Messungen der Enzymkonstanten sprechen eindeutig gegen diese Annahme und für eine verminderte Bildung von T_3 bzw. rT_3 aus T_4 als Ursache der Hormonkonzentrationsänderungen beim Fasten:

Bei gleichen T_4- und Mikrosomenproteinkonzentrationen im Inkubationsmedium wurde mit zunehmender Dauer des Fastens immer weniger T_3 gebildet. Die Auswertung von Dosis-Wirkungskurven mit Hilfe des Lineweaver-Burk-Plots erfolgte unter Verwendung der gemessenen freien T_4-Konzentrationen im Inkubat. So konnten Fehlinterpretationen, die durch einen Einfluß des Fastens auf die Bindung des T_4 an das Mikrosomenprotein hätten auftreten können, ausgeschlossen werden.
Im Verlauf der Fastenperiode ergab sich eine Abnahme der maximalen Konversionsgeschwindigkeit (V_{max}) und gleichzeitig ein Anstieg der Michaelis-Menthen-Konstante (K_m), also der zum Erreichen der halbmaximalen Reaktionsgeschwindigkeit benötigten Substratkonzentration. Die Veränderungen waren jeweils ab dem dritten Tag statistisch signifikant.

Die Geschwindigkeit der T_3-Bildung läßt sich für eine bestimmte freie T_4-Konzentration des Inkubats aus folgender Gleichung berechnen (analog nach Buddecke, 1977):

$$T_3\text{-Bildung} = \frac{\text{freies } T_4 \times V_{max}}{\text{freies } T_4 + K_m} \qquad (7)$$

Tabelle 5 zeigt, daß insbesondere bei sehr niedrigen freien T_4-Konzentrationen, wie sie wahrscheinlich innerhalb der Zelle auftreten, schon relativ geringe Verminderungen der V_{max} mit geringen Anstiegen der K_m zu erheblichen Verminderungen der T_3-Bildung führen.
So wurde für eine Konzentration von 1 nmol freies T_4/l eine Abnahme der T_4 zu T_3-Konversion um ca. 70 % nach dreitägigem Fasten und um 85 % nach zehntägigem Fasten berechnet. Die prozentuale Abnahme der Konversionsgeschwindigkeit bei niedrigen T_4-Konzentrationen ist somit viel stärker als die prozentuale Änderung der Enzymkonstanten. Bei den sicherlich

niedrigen intrazellulären Konzentrationen des freien T_4 dürften sich daher trotz relativ geringer Änderungen der Enzymkonstanten der T_4 zu T_3-Konversion erhebliche Minderungen der T_3-Bildung mit zunehmender Dauer des Fastens ergeben.

Fastentage	V_{max} (pmol T_3) / (mg x min)	K_m (nmol/l)	freies T_4 (nmol/l)	T_3-Bildung (pmol T_3) / (mg x min)	%
0	0.53	40.4	1	0.013	100 %
			10	0.105	100 %
			100	0.377	100 %
3	0.36	88.6	1	0.004	31 %
			10	0.037	35 %
			100	0.191	51 %
10	0.24	100.0	1	0.002	15 %
			10	0.022	21 %
			100	0.120	32 %

Tabelle 5: Nach Gleichung (7) berechnete T_3-Bildung für verschiedene freie T_4-Konzentrationen. Dabei wurden die ermittelten Enzymkonstanten von Rattenlebermikrosomen von Kontrollen und von Tieren, die drei bzw. zehn Tage lang gehungert hatten, zugrundegelegt. Die für eine angenommene freie T_4-Konzentration für die Kontrolltiere berechnete T_3-Bildung wurde jeweils als 100 %-Wert angegeben (letzte Spalte).

Zwischenresumée:

1. Bei fastenden Ratten wurde eine Abnahme des TSH, des reverse T_3, des Gesamt- und freien T_4 bzw. T_3 im Serum sowie ein Absinken des T_4 und T_3 im Lebergewebe beobachtet.

2. Als Ursache für den Abfall des T_3 wurde eine Verminderung seiner peripheren enzymatischen Produktion aus T_4 nachgewiesen, die durch einen Abfall der V_{max} und einen Anstieg der K_m der 5'-Dejodinase charakterisiert ist.

Zur Erklärung der während des Fastens gemessenen Konversionsbeeinträchtigung sollen im folgenden die theoretisch denkbaren Ursachen für eine Abnahme der Produktion von T_3 aus T_4 diskutiert werden:

Von verschiedenen Autoren (z.B. Gavin et al, 1981b) wurde als Ursache für die Konversionsminderung eine Abnahme der Konzentration der 5'-Dejodinasemoleküle in der Zelle vermutet. Diese Annahme stützten sie auf den Befund, daß die maximale Geschwindigkeit der enzymatischen Reaktion während des Fastens abnahm, die scheinbare Michaelis-Menthen-Konstante dagegen weitgehend unverändert blieb. Aus Untersuchungen von Heinen et al (1980) ist jedoch bekannt, daß mit Abnahme der Menge inkubierten Mikrosomenproteins die K_m abfällt, sofern man die Michaelis-Menthen-Konstante als die Gesamtsubstratkonzentration angibt, bei der die halbmaximale Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion erreicht wird.

Diese Phänomen konnte damit erklärt werden, daß das zugegebene T_4 zu einem sehr hohen Prozentsatz an die Mikrosomenfraktion gebunden wird. Eine Verminderung der Proteinmenge bewirkt daher einen Anstieg der freien, verfügbaren T_4-Konzentration. Bei der direkten Messung des freien T_4 im Inkubationsmedium und Verwendung des freien T_4 als Substratkonzentration war nämlich eine Beeinflussung der K_m durch mehr oder

weniger Protein nicht mehr nachweisbar (Heinen et al, 1982).

Übertragen auf die hier diskutierten Verhältnisse bedeutet dies, daß eine fastenbedingte Abnahme der Proteinkonzentration zu einer Zunahme der Konzentration an freiem Hormon im Inkubationsmedium der Konversion in vitro führen muß. Dieser Effekt wird noch unterstützt, wenn - wie in den zitierten Untersuchungen von Gavin et al (1981b) - lediglich ein Aliquot des Leberhomogenats und nicht - wie in der vorliegenden Arbeit - jeweils konstante Mengen des Mikrosomenproteins für die Konversion eingesetzt werden.

Am dritten Fastentag war eine Verminderung der Proteinkonzentration der Mikrosomenfraktion um etwa 30 % feststellbar (Abb. 4), was gleichzeitig eine Erhöhung des wirksamen freien T_4 im Inkubat bedeutet. In den Untersuchungen von Gavin et al (1981b) zeigt daher die Tatsache, daß trotz der Abnahme der inkubierten Proteinmenge und der daraus folgenden Erhöhung der effektiven freien T_4-Konzentration die scheinbare K_m ("eingesetztes T_4") nicht kleiner wurde, daß die wahre K_m ("freies T_4") in Wirklichkeit anstieg.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden diese möglichen Fehlerquellen nicht nur durch die Verwendung gleicher Mikrosomenproteinmengen, sondern auch durch die Messung des freien T_4 in jedem einzelnen Inkubationsansatz und Verwendung des freien T_4 als Substratkonzentration eliminiert. Dabei wurde ein signifikanter Anstieg der K_m schon nach dreitägigem Fasten nachgewiesen.
Somit kann das Hauptargument für eine Abnahme der Menge der 5'-Dejodinasemoleküle entkräftet werden: die Enzymkonstanten verhalten sich nicht wie bei einer lediglichen Abnahme der Enzymmenge.

Zusätzlich wurde in der vorliegenden Untersuchung die Menge der 5'-Dejodinasemoleküle bestimmt. Dies erfolgte durch die Messung der maximalen Bindungskapazität der spezifischen Bin-

dungsstelle der Mikrosomenfraktion für rT_3, da Heinen et al (1980) nachgewiesen hatten, daß dieser Parameter die Menge der 5'-Dejodinasemoleküle repräsentiert. Die Auswertung der Bindungsstudien ergab weder für die maximale Bindungskapazität pro mg Protein noch für die Dissoziationskonstante der spezifischen Bindung des rT_3 an die Mikrosomenfraktion eine signifikante Änderung während des Fastens. Dieses Ergebnis spricht somit zusätzlich gegen eine fasteninduzierte Verminderung der 5'-Dejodinasemoleküle.
Ein weiteres Argument gegen eine Abnahme des dejodinierenden Enzyms liefern Wiederfütterungsversuche von Burger et al (1980a). Hierbei ergab sich schon drei Stunden nach Glucosegabe nahezu eine Normalisierung der T_3-Konzentration im Rattenserum. Durch diese kurze Zeitspanne ist eine de novo- Synthese von 5'-Dejodinasemolekülen auszuschließen.

Die hier gemessenen Veränderungen der Enzymkonstanten (Abfall der V_{max}, Anstieg der K_m) ließen sich auf die Existenz eines nicht kompetitiven Hemmfaktors oder die Verminderung eines bisher nicht bekannten zusätzlichen Cofaktors zurückführen. Dieser angenommene Cofaktor wäre wahrscheinlich nicht SH-gruppenhaltig, da im Inkubationsmedium SH-Gruppen im Überschuß vorhanden waren.

Köhrle et al (1981) favorisieren eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration als Ursache für die fasteninduzierte Hemmung des Abbaus von T_4 zu T_3. Diese Erklärung scheint jedoch sehr unwahrscheinlich, da die bei der vorliegenden Untersuchung nachgewiesene Konversionshemmung trotz eines konstanten pH im Inkubationsmedium auftrat. Darüberhinaus kommt es in vivo aufgrund des im Hungerzustand verstärkten Anfalls von Ketonkörpern zur Ausbildung einer Azidose. Höffken et al (1977) sowie Visser et al (1979) wiesen jedoch nach, daß das pH-Optimum der 5'-Dejodination von T_4 zu T_3 bei ca. 6.5 liegt. Somit müßte ganz im Gegensatz zu allen Beobachtungen die periphere T_3-Produktion aus T_4 zunehmen und die T_3-Konzentra-

tion im Serum bzw. im Gewebe ansteigen. Eine Änderung der intrazellulären Wasserstoffionenkonzentration dürfte daher als Ursache für die beobachtete Hemmung der peripheren Dejodination ausscheiden.

Wie Visser et al (1976, 1978), Chopra (1978) sowie Balsam et al (1979) zeigten, ist die Geschwindigkeit der Dejodination von Jodthyroninen in erheblichem Maße von der SH-Gruppenkonzentration abhängig. Bei den vorliegenden in vitro-Untersuchungen wurden eventuelle Beeinflussungen der Konversion durch unterschiedliche GSH-Konzentrationen durch die Zugabe von reduziertem Glutathion im Überschuß (5 mmol/l) vermieden. Vorversuche hatten in der Mikrosomenfraktion GSH-Konzentrationen unter 0.1 mmol/l ergeben. Somit ist es ausgeschlossen, daß die an der isolierten Mikrosomenfraktion - also in vitro - nachgewiesenen Effekte des Fastens auf Änderungen der GSH-Konzentration des Lebergewebes zurückzuführen sind.

Im Gegensatz zu den Verhältnissen in vitro, bei denen bewußt die GSH-Konzentration konstant gehalten wurde, nahm in vivo die Leber-GSH-Konzentration schon nach einem Tag signifikant auf etwa 1/3 der Kontrollen ab, also zu einem Zeitpunkt, an dem weder die Enzymkonstanten noch das Substratangebot in Form des Leber-T_4 signifikant verändert wären. Somit kann der Abfall des Serum-T_3 zu Beginn der Fastenperiode durch die Verminderung des Cofaktors GSH erklärt werden.

Zusätzlich weist der Verlauf der Serum-rT_3-Konzentration auf einen Einfluß von GSH auf die T_4-Dejodination in der Akutphase des Fastens hin. Die Abnahme der Serum-rT_3-Konzentration am dritten Tag der Fastenperiode könnte mit einer Hemmung auch der 5-Dejodination von T_4 erklärt werden, da die Hemmung der 5'-Dejodinase einen beschleunigten Abbau von rT_3 zu 3,3'-T_2 als Ursache für die Verminderung des Serum-rT_3 unwahrscheinlich macht. Der zeitliche Verlauf der Serum-rT_3-Konzentration folgt dem Verlauf des Leber-GSH mit einer Latenz von ein bis

zwei Tagen (Abfall nach drei Tagen und anschließender Wiederanstieg). Somit könnte die Veränderung der Leber-GSH-Konzentration in Form des Cofaktormangels auch für die 5-Dejodinase einen erheblichen Anteil an den Akutveränderungen der Serum-rT_3-Konzentration haben.

Der Abfall der Mikrosomenproteinkonzentration pro g Leber trägt in vivo ebenso wie die Verminderung des relativen Lebergewichts zusätzlich zur Abnahme der peripheren T_3-Produktion und damit zur Ausbildung eines Low-T_3-Syndroms bei, auch wenn dadurch der beobachtete Abfall des Serum- und Gewebe-T_3 nicht vollständig zu erklären ist.

Andere Autoren gehen davon aus, daß die fasteninduzierte Verminderung der Schilddrüsenhormone im Serum als Hypothyreose zu deuten sei und ebenso wie eine genuine primäre Hypothyreose zu einer Hemmung der enzymatischen Dejodination von T_4 zu T_3 führt (Kaplan und Utiger, 1978a; Harris et al, 1978b; Balsam et al, 1978).
Für diese These sprechen Versuche von Balsam et al (1979), Chopra (1980) und Takai et al (1980), bei denen die Gabe von Schilddrüsenhormonen während des Fastens die Hemmung der Konversion aufhob. Harris et al (1978b, 1979), Kaplan (1979) und Eisenstein et al (1980) konnten dagegen keine derartige Wirkung der Schilddrüsenhormone bei fastenden Ratten nachweisen.

Eine weitere Theorie geht von der Annahme aus, daß die intrazelluläre Konzentration von Glucose oder ihrer Abbauprodukte einen regulierenden Einfluß auf die Konversion von T_4 zu T_3 hat. Balsam et al (1978), Azizi (1978), Harris et al (1979), Burman et al (1979), Gavin et al (1980, 1981a) sowie Jaedig und Faber (1982) zeigten sowohl bei Ratten als auch bei Menschen, daß die Gabe von Glucose die fasteninduzierte Hemmung der Konversion aufzuheben vermag. Diese Effekte ließen sich auch für die Fütterung mit Fructose (Burman et al, 1979) und Proteinen (Azizi, 1978; Gavin et al, 1981a) nachweisen, nicht

jedoch für die Verabreichung von Fetten (Harris et al, 1978b; Burger et al, 1980a).

Untersuchungen zum Einfluß des Diabetes mellitus passen zu der Theorie, daß Glucose bzw. ihre Abbauprodukte die Konversion regulieren können:
Bei diabetischen Ratten zeigten sich die gleichen Veränderungen an der 5'-Dejodinase wie bei den Fastentieren, somit ließe sich ein ähnlicher Hemmungsmechanismus unterstellen. Das TSH und das T_4 im Serum blieben dagegen weitgehend unverändert (Mosny et al, 1981).
Weitere Effekte des Glucosemangels, wie die intrazelluläre Änderung des Lactat-Pyruvat-Quotienten (Burger et al, 1980a) oder der Anstieg des Glucagons, die über einen Anstieg des cAMP in der Leber zu einer Phosphorylierung der Dejodinase führen und damit die Enzymkonstanten in der beschriebenen Richtung verändern könnten, werden der Gegenstand zukünftiger Untersuchungen zur Aufklärung des konversionshemmenden Mechanismus beim Fasten sein.

Ähnliche Veränderungen der Schilddrüsenhormonkonzentrationen wie bei der Ratte wurden beim fastenden Menschen beschrieben: Bei meist unverändertem Gesamt-T_4 beobachtete man eine Erniedrigung des Gesamt- und freien T_3 im Serum und eine Erhöhung des Serum-rT_3 (Portnay et al, 1974; Vagenakis et al, 1975; Spaulding et al, 1976 u.a.). Kinetikstudien zeigten nicht nur verminderte T_3-Produktionsraten, sondern auch einen Abfall der rT_3-Clearanceraten, was beides für eine Hemmung der 5'-Dejodinase spricht (Vagenakis et al, 1977; Suda et al, 1978; Eisenstein et al, 1978; Pittman et al, 1980).

Für die 5-Dejodination, das heißt für die rT_3-Produktion und die T_3-Clearance, fanden sich keine einheitlichen Ergebnisse: Einerseits konnten Vagenakis et al (1977), Eisenstein et al (1978) und Pittman et al (1980) keine signifikanten Verände-

rungen dieser Parameter nachweisen, auf der anderen Seite beobachteten Suda et al (1978) sowohl eine Verminderung des T_3-Abbaus als auch eine (allerdings nicht signifikante) Erhöhung der rT_3-Produktionsrate. Letztere erklärten sie durch ein Ausweichen der T_4-T_3-Konversion auf die Produktion des inaktiven rT_3. Allerdings war die von ihnen gemessene Erhöhung der rT_3-Synthese nicht stark genug, um damit den starken Abfall der Konversion von T_4 zu T_3 zu erklären.

Das basale Serum-TSH bei fastenden Menschen wird entweder als unverändert (Portnay et al, 1974; Merimee und Fineberg, 1976; Carlson et al, 1977) oder sogar als erniedrigt beschrieben (Vinik et al, 1975; Croxon et al, 1977; Azizi, 1978). Der TSH-Anstieg nach TRH-Gabe ist außer bei Portnay et al (1974, unveränderter TSH-Anstieg) im Vergleich zu nicht fastenden Kontrollen vermindert (Vinik et al, 1975; Azizi, 1978; Burman et al, 1979, 1980; Burger et al, 1980b; Borst et al, 1983). Dabei scheint die Verminderung des Serum-TSH eher durch eine verringerte hypophysäre TSH-Synthese als durch eine gehemmte TSH-Sekretion verursacht zu werden (Harris et al, 1980a; Burman et al, 1979, 1980). Burger et al (1978b) wiesen eine verminderte Hemmung des TRH-induzierten TSH-Anstieges durch T_3 nach, was eine relative Resistenz der T_3-induzierten Hemmung der hypophysären TSH-Produktion vermuten läßt. Gardner et al (1979) konnten diesen Effekt durch höhere Gaben von T_3 wieder hervorrufen.

Nach den Untersuchungen von Burger et al (1980b) ist es unwahrscheinlich, daß die Ursache für die verminderte Serum-TSH-Konzentration in einer Blockade der TSH-Produktion durch vermehrte intrahypophysäre T_3-Bildung aus T_4 zu suchen ist. Bei fastenden Ratten wiesen Naito et al (1981) sogar eine starke Verminderung der hypophysären T_3-Produktionsrate nach.

Die beschriebene Verminderung des thermogenese-aktiven T_3 während des Fastens bietet eine Erklärung dafür an, daß adi-

pöse Patienten trotz Durchführung einer Reduktions- oder "Nulldiät" oft nur sehr langsame Gewichtsabnahmen zeigen. Moore et al (1980) verabreichten Patienten mit reduzierter Kost 3 x 20 µg T_3 pro Tag und erreichten über zwölf Wochen eine stärkere Gewichtsabnahme als bei den Kontrollen. Bei den unbehandelten Probanden fand sich eine positive Korrelation zwischen der Gewichtsabnahme, dem Grundumsatz und der Serum-T_3-Konzentration. Bei den T_3-behandelten Patienten konnte jedoch nur eine inverse Korrelation des Serum-T_3 zu Gewichtsabnahme bzw. Grundumsatz errechnet werden, sodaß ein Einfluß der Thyronine auf die fastenbedingten Veränderungen der Thermogenese als nicht mehr gesichert angesehen wurde. Acheson und Burger (1980) konnten durch die Gabe eines Hemmers der peripheren Konversion (Iopansäure) zwar eine ähnliche Verminderung der Serum-T_3-Konzentration, nicht aber eine vergleichbar ausgeprägte Abnahme des Grundumsatzes hervorrufen. Somit schlossen sie, daß die T_3-Konzentration zumindest nicht in dem bisher angenommenen Maße ursächlich an der Grundumsatzverminderung beim Fasten beteiligt ist.

Dabei setzten sie allerdings voraus, daß dem sowohl durch Iopansäure als auch durch Fasten hervorgerufenen T_3-Abfall gleiche intrazelluläre Veränderungen entsprachen. Verschiedene Untersuchungen über das Fasten zeigten jedoch, daß nicht nur die verminderten Serum- und Gewebekonzentrationen des T_3 zu einer prozentual niedrigeren Besetzung der T_3-Kernrezeptoren mit T_3 führen (Oppenheimer und Schwartz, 1980) sondern daß auch die Konzentration der T_3-Rezeptoren selbst erniedrigt ist (Burman et al, 1977; Schussler et al, 1978; Bavli et al, 1980). Dieser Vorgang dürfte die Auswirkungen des Absinkens des Leber-T_3 noch wesentlich verstärken. Die Verminderung der T_3-Kernrezeptoren in der Leber ließ sich zusätzlich durch Glucagon (das ja beim Fasten ebenfalls erhöht ist) hervorrufen (Dillman et al,1978). Bavli et al (1980) wiesen

in der Hypophyse fastender Ratten ebenfalls eine Verminderung der T_3-Kernrezeptormenge nach, die allerdings nicht durch Glucagongabe auslösbar war.

Auch die Antwort der Zelle auf die Bildung des T_3-T_3-Rezeptorkomplexes, zum Beispiel die durch T_3 induzierte Synthese des Malatenzyms, scheint beim Fasten gehemmt zu werden. Oppenheimer und Schwartz (1980) führten entsprechende Untersuchungen durch und konnten zeigen, daß die Produktionsrate dieses Enzyms nach drei Hungertagen auf ein Drittel herabgesunken war und nach fünf Tagen völlig erlosch, selbst wenn man die verminderte Konzentration an T_3-T_3-Kernrezeptoren zugrundelegt. Dabei scheint die Bildung der für das Malatenzym zuständigen mRNS durch das Fehlen von Glucose, Fructose oder deren Abbauprodukte gehemmt zu werden (Towle et al, 1980). Ähnliche Verhältnisse fanden sich auch bei der Beeinflussung der Fettsäure-Synthethase, der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase sowie der Gluconat-6-Phosphat-Dehydrogenase (Mariash et al, 1980a,b). Mariash et al (1981) fanden Anhaltspunkte dafür, daß zumindest bei der Synthese des Malatenzyms das T_3 als Vervielfacher eines glucoseinduzierten Signals funktioniert. Dabei scheint weder dem Thyronin noch dem Kohlehydrat eine Priorität bei der Induktion zuzukommen.

Nun lassen sich mit der durch die Verminderung der T_3-Rezeptormenge sowie mit der durch die Hemmung der Zellantwort erreichten "Resistenz" der Zelle gegen das T_3 beim Fasten eine Reihe der obenbeschriebenen Effekte erklären:
Die durch die Gabe von Konversionshemmstoffen abgesunkene Serum-T_3-Konzentration führt zu weniger starken Auswirkungen auf den Grundumsatz als das Fasten, bei dem zusätzlich noch die Hemmung der Zellantwort eintritt. Dieser Mechanismus könnte auch für die inverse Korrelation zwischen Grundumsatz bzw. Gewichtsverlust und der Serum-T_3-Konzentration bei Reduktionsdiät plus T_3-Gabe (Moore et al, 1980) sowie für die

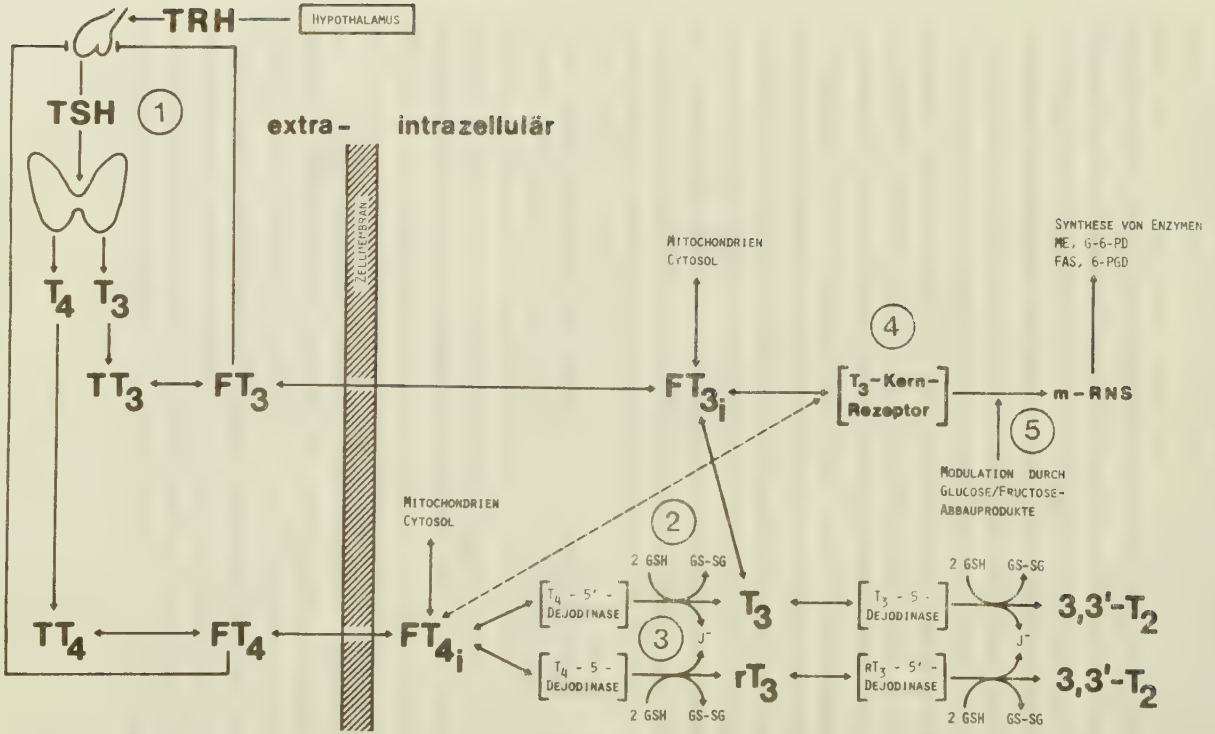

Abbildung 15: Regulation der Konzentrationen und Wirkung der Schilddrüsenhormone bei fastenden Ratten. ① = Hemmung der TSH-Sekretion der Hypophyse, ② = Abnahme der Konzentration des reduzierten Glutathions (GSH, GS-SG = oxidiertes Glutathion), ③ = Hemmung der Dejodination "an sich", ④ = Abnahme der Menge der Kernrezeptoren für T_3, ⑤ = Hemmung der Antwort auf die Bindung von T_3 an seinen Kernrezeptor bei Glucosemangel. FT_{3_i}, FT_{4_i} = intrazellulär freies T_3 bzw T_4. ME = Malat-Enzym, G-6-PD = Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, FAS = Fettsäure-Synthetase, 6-PGD = Gluconsäure-6-Phosphat-Dehydrogenase. Eckige Klammer: Konzentration des entsprechenden Komplexes.

verminderte Hemmbarkeit des TRH-induzierten TSH-Anstieges durch T_3 (Burger et al, 1980b) verantwortlich sein.

Die Veränderungen von Regulation und Wirkung der Schilddrüsenhormone beim Fasten lassen sich folgendermaßen zusammenfassen (Abbildung 15):

1. Die Erniedrigung des Serum-TSH-Spiegels führt hauptsächlich zu einer Verminderung der T_4-Konzentration im Serum und im Gewebe und damit zu einem verringerten Substratangebot an die Dejodinasen. Daraus erklärt sich ein Teil der Abnahme der T_3-Bildung in der Leber.

2. Insbesondere in der Anfangsphase des Fastens kommt es zu einer Verminderung des zellulären Gehalts an reduziertem Glutathion, der sich in Form eines Cofaktormangels zusätzlich hemmend auf die Konversion auswirkt.

3. Unabhängig von den unter 1. und 2. aufgeführten Veränderungen wird die 5'-Dejodinase und wahrscheinlich auch die 5-Dejodinase (s. rT_3-Konzentrationen) gehemmt. Dafür kommen als Ursache ein Mangel eines weiteren Cofaktors oder das Vorhandensein eines nicht kompetitiven Hemmfaktors, nicht aber eine Verminderung des konvertierenden Enzyms in Frage.

4. Die aus den Punkten 1. bis 3. verständliche Abnahme des Gewebe-T_3 ruft eine erniedrigte prozentuale Besetzung der T_3-Kernrezeptoren hervor. Da unabhängig davon auch noch die Menge der T_3-Kernrezeptoren abnimmt, resultiert eine ganz erhebliche Verminderung der T_3-T_3-Kernrezeptorkomplexe.

5. Auch die Antwort der Zelle auf das T_3, zum Beispiel die Bildung von mRNS bestimmter Enzyme, wird durch die Verminderung des T_3 sowie den Mangel an Glucose gehemmt.

Somit lassen sich die gemessenen Serumkonzentrationen der Schilddrüsenhormone in ein Regelungssystem einbauen, das die Vielfalt der Beeinflussungen des Thyroninmetabolismus beim Fasten deutlich macht (Abb. 15).

Abkürzungsverzeichnis

BSA	Rinderserumalbumin
FAS	Fettsäuresynthetase
FT_3	freies T_3
FT_4	freies T_4
G-6-PD	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GSH	reduziertes Glutathion
GS-SG	oxidiertes Glutathion
K_d	Dissoziationskonstante
K_m	Michaelis-Menthen-Konstante
LT_3	Leber-T_3
LT_4	Leber-T_4
ME	Malatenzym
NIAMDD	National Institute of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases
PTU	6-Propyl-2-Thiouracil
RIA	Radioimmunoassay
rT_3	reverse T_3, 3,3',5'-Trijod-L-Thyronin
SEM	Standard Error of the Mean
3,5-T_2	3,5-Dijod-L-Thyronin
3,3'-T_2	3,3'-Dijod-L-Thyronin
3',5'-T_2	3',5'-Dijod-L-Thyronin
T_3	3,5,3'-Trijod-L-Thyronin
T_4	L-Thyroxin
TRH	Thyreotropin-Releasing Hormone
TSH	Thyreotropin, schilddrüsenstimulierendes Hormon
TT_3	Gesamt-T_3 im Serum
TT_4	Gesamt-T_4 im Serum
V_{max}	Maximale Reaktionsgeschwindigkeit

Literaturverzeichnis

Abrams G.M., Larsen P.R.
Triiodothyronine and thyroxine in the serum and thyroid glands of iodine-deficient rats.
J. Clin. Invest. 52: 2522, 1973

Acheson K.J., Burger A.G.
A study of the relationship between thermogenesis and thyroid hormones.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 84, 1980

Azizi F.
The effect of dietary composition on fasting induced changes in serum thyroid hormones and thyroid hormones and thyrotropin.
Metabolism 27: 935, 1978

Balsam A., Ingbar A.H., Sexton F.
The influence of fasting, diabetes and several pharmacological agents on the pathways of thyroxine metabolism in rat liver.
J. of Clin. Invest. 62: 415, 1978

Balsam A., Ingbar S.H., Sexton F.
Observations on the factors that control the generation of triiodothyronine from thyroxine in rat liver and the nature of the defect induced by fasting.
J. Clin. Invest. 63: 1145, 1979

Bavli S.Z,
Fasting, but not glucagon administration, decreases anterior pituitary nuclear thyroid hormone receptors in rats.
Metabolism 29: 636, 1980

Beutler E., Duron O., Kelly B.M.
Improved method for the determination of blood glutathion.
J. Lab. & Clin. Med., May 1963: 882

Blanchard R.F., Davis P.J.
Dependence of renal Na,K-ATPase on subphysiologic levels of thyroid hormone in vitro.
Ann. Meet. Amer. Thyroid Assoc. A-19, 1978

Borst G.C., Osburne R.C., Burman K.D.
Fasting decreases thyrotropin responsiveness to thyrotropin-releasing hormone.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 57: 380, 1983

Buddecke E.
Grundriß der Biochemie
De Gruyter Verlag, Berlin: 1977

Burger A.G., Berger M., Wimpfheimer K., Danforth E.
Interrelationships between energy metabolism and thyroid hormone metabolism during starvation in the rat.
Acta Endocrinol. 93: 322, 1980a

Burger A.G., Weissel M., Berger M,.
Starvation induces a partial failure of triiodothyronine to inhibit the thyrotropin response to thyrotropin-releasing hormone.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 51: 1064, 1980b

Burman K.D., Lukes Y., Wright F.D., Wartofsky L.
Reduction in hepatic triiodothyronine binding capacity induced by fasting.
Endocrinology 101: 1331, 1977

Burman K.D., Dimond R.C., Harvey G.S., Wright F.D.
Glucose modulation of alterations in serum iodothyronine concentrations induced by fasting.
Metabolism 28: 291, 1979

Burman K.D., Smallridge E.C., Osburne R., Dimond R.C.
Nature of suppressed TSH secretion during undernutrition.
Metabolism 29: 46, 1980

Burr W.A., Black E.G., Griffiths R.S., Hoffenberg R.
Serum triodothyronine and reverse triiodothyronine concentrations after surgical operation.
The Lancet 1277, 1975

Brunelle Ph., Bohuon C.
Baisse de la triiodothyronine sérique avec l'âge.
Clin. Chim. Acta 42: 201, 1972

Carlson H.E., Drenick E.J., Chopra I.J., Hershman J.M.
Alterations in basal and TRH stimulated serum levels of thyrotropin, prolactin and thyroid hormones in starved obese men.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 707, 1977

Cavalieri R.R., Rapoport B.
Impaired peripheral conversion of thyroxine to Triiodothyronine.
Ann. Rev. Med. 28: 57, 1977

Chopra I.J.
A study of extrathyroidal conversion of thyroxine to 3,3',5-triiodothyronine in vitro.
Endocrinology 101: 453, 1977

Chopra I.J.
Sulfhydryl groups and the monodeiodination of thyroxine to triiodothyronine.
Science Vol. 199: 904, 1978

Chopra I.J.
Alterations in monodeiodination of iodothyronines in the fasting rat.
Metabolism 29: 161, 1980

Chopra I.J.
Triiodothyronines in health and diseases.
Monographs on Endocrinology 18: Springer Verlag, 1981a

Chopra I.J.
Characteristics of outer ring (5'- or 3'-)monodeiodination of 3',5'- and 3,3'-diiodothyronine.
Endocrinology 108: 464, 1981b

Chopra I.J., Solomon D.H., Chopra U., Young R.T., Teco G.N.C.
Alterations in circulating thyroid hormones and thyrotropin in hepatic cirrhosis.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 39: 501, 1974

Chopra I.J., Chopra U., Smith S.R., Reza M., Solomon D.H.
Reciprocal changes in serum concentrations of 3,3',5'-triiodothyronine and 3,3',5-triiodothyronine in systemic illness.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 41: 1043, 1975a

Chopra I.J., Sack J., Fisher D.A.
Circulating reverse T_3 in the human newborn.
J. Clin. Invest. 55: 1137, 1975b

Chopra I.J., William D.E., Orgiazzi J., Solomon D.H.
Opposite effects of dexamethasone on serum concentrations of reverse T_3 and T_3.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 41: 911, 1975c

Croxon M.S., Hall T.D., Kletsky O.A., Jaramillo J.E., Nicoloff J.T.
Decreased serum thyrotropin induced by fasting.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 560, 1977

D'Angelo S.A.
The effect of acute starvation on the thyrotrophic hormone level in the blood of the rat and mouse.
Endocrinology 48: 341, 1951

Dillmann W.H., Bonner R.A., Oppenheimer J.H.
Glucagon administration decreases hepatic nuclear triiodothyronine binding capacity.
Endocrinology 102: 1633, 1978

Duick D.S., Warren D.W., Nicoloff J.T., Otis C.L., Croxon M.S.
Effect of single dose dexamethasone on the concentration of serum triiodothyronine in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 39: 1151, 1974

Eisenstein Z., Hagg S., Vagegenakis A.G., Fang S.L.
Effect of starvation on the production and peripheral metabolism of 3, 3',5'-triiodothyronine in euthyoid obese subjects.
Endocrinol. Metab. 47: 889, 1978

Eisenstein Z., Balsam A., Garber J.R., Ingbar S.H.
A study of the properties of the enzyme in rat liver that deiodinates 3,3',5'-triiodothyronine to 3,3'-diiodothyronine.
Endocrinology 107: 530, 1980

Ellman G.L.
Tissue sulfhydryl groups
Arch. Biochem. Biophys. 82: 70, 1959

Gardner D.F., Kaplan M.M., Stanley C.S., Utiger R.D.
The effect of I_3 replacement on the metabolic and pituitary responses to starvation.
N. Engl. J. Med. 300: 579, 1979

Gavin L., Hammond M., Castle J., Cavalieri R.R.
3,3'-diiodothyronine production, a major pathway of peripheral iodothyronine metabolism in man.
J. Cli. Invest. 61: 1276, 1978

Gavin L.A., McMahon F.A., Moeller M.
Dietary modification of thyroxine deiodination in rat liver is not mediated by hepatic sulfhydryls.
J. Clin. Invest. 65: 943, 1980

Gavin L.A., McMahon F.A., Moeller M.
Carbohydrate in contrast to protein feeding increases the hepatic content of active thyroxine-5'-deiodinase in the rat.
Endocrinology 109: 530, 1981a

Gavin L.A., Moeller M., McMahon F., Javalieri R.R.
Glucose refeeding increases the hepatic content of active T_4-5'-deiodinase.
11th Ann. Meet. Europ. Thyroid Assoc. 76A, 1981b(Abstract)

Grant A.M., Edwards O.M., Howard A.N., Challand G.S., Mills I.
Thyroidal hormone metabolism in obesity during semistarvation.
Clin. Endocrinology 9: 227, 1978

Harris A.R.C., Fang S.L., Azizi F., Lipworth L., Vagenakis A.G., Braverman, L.
Effect of starvation on hypothalamic- pituitary thyroid function in the rat.
Metabolism 27: 1074, 1978a

Harris A.R.C., Fang S.L., Vagenakis A.G., Braverman L.E.
Effect of starvation, nutriment replacement and hypothyroidism on in vitro hepatic T_4 to T_3 conversion in the rat.
Metabolism 27: 1680, 1978b

Harris A.R.C., Fang S.L., Hinerfeld L., Braverman L.E., Vagenakis A.
The role of sulfhydryl groups on the impaired hepatic 3,3', 5-triiodothyronine generation from thyroxine in the hypothyroid, starved, fetal and neonatal rodent.
J. Clin. Invest. 63: 516, 1979

Heinen E., Basler M., Herrmann J., Hafner D., Krüskemper H.L.
Enzyme kinetic and substrate-binding studies of the thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine converting enzyme in the rat liver microsomal fraction.
Endocrinology 107: 1198, 1980

Heinen E., Herrmann J., Mosny D., Moreno F., Teschke R., Krüskemper H.L.
Inhibition of peripheral deiodination of 3,5,3'-triiodothyronine - an adverse effect of propylthiouracil in the treatment of T_3-thyrotoxicosis.
J. Endocrinol. Invest.: 1981

Henninger R.W., Larson F.C., Albright E.C.
Iodine-containing compounds of extrathyroidal tissues.
J. Clin. Invest. 42: 1761, 1962

Herrmann J.
Diagnostische Bedeutung der freien Schilddrüsenhormone im Serum.
Internistische Welt 2: 136, 1979

Herrmann J., Krüskemper, H.K., Müller H.
Zur Methodik der Bestimmung von freiem, dialysablem Thyroxin im Serum.
Clin. Chim. Acta 24: 457, 1969

Herrmann J., Rusche H.J., Kröll H.J., Rudorff K.H., Krüskemper H.L.
Trijodthyronin: Abnahme der Serumkonzentration mit zunehmendem Alter.
Dtsch. Med. Wochenschrift 99: 2122, 1974

Herrmann J., Heinen E., Kröll H.J., Rudorff K.H., Krüskemper H.L.
Thyroid function and thyroid hormone metabolism in elderly people.
Klin. Wochenschrift 59: 315, 1981

Hesch R.D., Brunner G., Söling H.D.
Conversion of thyroxine and triiodothyronine and the subcellular localization of the converting enzyme.
Clin. Chim. Acta 59: 209, 1975

Höffken B., Ködding R., Hesch R.D.
Conversion of T_4 to T_3 and rT_3 and their cytoplasmic bindings: pH dependency.
Clin. Chim. Acta 78: 261, 1977

Hüfner M., Grussendorf M.
Investigations on the deiodination of thyroxine (T_4) to 3,3'-diiodothyronine in rat liver homogenate.
Clin. Chim. Acta 85: 243, 1978

Jaedig S., Faber J.
The effect of starvation and refeeding with oral versus intravenous glucose on serum 3,5-, 3,3'- and 3',5'-diiodothyronine and 3'-monoiodothyronine.
Acta Endocrinol. 100: 388, 1982

Jennings A.S., Ferguson D.C., Utiger R.D.
Regulation of the conversion of thyroxine to triiodothyronine in the perfused rat liver.
J. Clin. Invest. 64: 1614, 1979

Kaplan M.M.
Subcellular alterations causing reduced hepatic thyroxine-5'-monodeiodinase activity in fasted rats.
Endocrinology 104: 58, 1979

Kaplan M.M., Utiger R.D.
Iodothyronine metabolism in liver and kidney homogenates from hyperthyroid and hypothyroid rats.
Endocrinology 103: 156, 1978a

Kaplan M.M., Utiger R.D.
Iodothyronine metabolism in rat liver homogenates.
J. Clin. Invest. 61: 459, 1978b

Kaplan M.M., Schimmel M., Utiger R.D.
Changes in serum 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T_3) concentrations with altered thyroid hormone secretion and metabolism.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 47: 447, 1977

Köhrle J.
Biochemistry of iodothyronine deiodination: importance of pH and regulatory iodothyronines.
The "Low T_3 Syndrome", ed. R.D. Hesch. Academic Press, 1981

Lauterburg B.H., Mitchell J.R.
Regulation of hepatic glutathione turnover in rats in vivo and evidence for kinetic homogenity of the hepatic glutathione pool.
J. Clin. Invest. 67: 1415, 1981

Mariash C.N., Kaiser F.E., Oppenheimer J.H.
Comparison of the response characteristics of four lipogenic enzymes to 3,5,3'-triiodothyronine administration.
Endocrinology 106: 22, 1980a

Mariash C.N., Kaiser F.E., Schwartz H.L., Towle H.C.
Synergism of thyroid hormone and high carbohydrate diet in the induction of lipogenic enzymes in the rat.
J. Clin. Invest. 65: 1126, 1980b

Mariash C.N., Mebwigan C.R., Towle H.C., Schwartz H.L., Oppenheimer J.H.
Glucose and triiodothyronine both induce malic enzyme in the rat hepatocyte culture.
J. Clin. Invest. 68: 1485, 1981

Merimee T.J., Fineberg E.S.
Starvation induced alterations of circulating thyroid hormone concentrations in man.
Metabolism 25: 79, 1976

Mitchell J.R., Jollow D.J., Potter W.Z. Gillette J.R., Brodie B.B.
Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV protective role of glutathione.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 187: 211, 1973

Moore R., Grant A.M., Howard A.N., Mills I.H.
Treatment of obesity with triiodothyronine and a very low calorie liquid formula diet.
Lancet 1: 223, 1980

Mosny D.S., Heinen E., Herrmann J., Hafner D., Krüskemper H.L.
Peripheral regulation of thyroid hormones in diabetic rats.
Acta Endocrinol. Suppl. 243: 179, 1981

Naito K., Inada M., Mashio Y.
Modulation of T_4-5'-monodeiodination in rat anterior pituitary and liver homogenates by thyroid states and fasting.
Endocrinol. Japon. 28: 793, 1981

Oppenheimer J.H.
Thyroid hormone action at the cellular level.
Science 203: 971, 1979

Oppenheimer J.H., Schwartz H.L.
Factors determining the level of activity of 3,5,3'-triiodothyronine-responsive hepatic enzymes in the starved rat.
Endocrinology 107: 1460, 1980

Oppenheimer J.H., Schwartz H.L., Surks M.I.
Propylthiouracil inhibits the conversion of l-thyroxine to l-triiodothyronine.
J. Clin. Invest. 51: 2493, 1972

Pittman C.S., Shimitu T., Burger A., Chambers J.B.
The nondeiodinative pathway of thyroxine metabolism.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 50 : 712, 1980

Portnay G.I., O-Brian J.T., Bush J., Vagenakis A.G., Azizi F., Arky R.A., Ingbar S.H., Braverman L.E.
The effect of starvation on the concentration and binding of thyroxine and triiodothyronine in serum and on the response to TRH.
J. Clin. Endcrinol. Metab. 39: 191, 1974

Reichlin S., Bollinger J., Nejad I., Sullivan P.
Tissue thyroid hormone concentration of rat and man determined by radioimmunoassay: biologic significance.
Mt. Sinai J. Med. (N.Y.) 40: 502, 1973

Robbins J., Rall J.E.
Zone electrophoresis in filter paper of serum ^{131}I after radioiodide administration.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81: 530, 1952

Rubinstein H.A., Butler V.P., Werner S.C.
Progressive decrease of serum triiodothyronine concentrations with human aging: radioimmunoassay following extraction of serum.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 37: 247, 1973

Saunders J., Hall S.E.H., Sönksen P.H.
Thyroid hormones in insulin requiring diabetes before and after treatment.
Diabetologia 15: 29, 1978

Schussler G.C., Orlando J.
Fasting decreases triiodothyronine receptor capacity.
Science 199: 686, 1978

Schwartz H.L., Bernstein G., Oppenheimer J.H.
Effect of phenobarbital administration of (^{125}I)thyroxine in rat liver: importance of microsomal binding.
Endocrinology 84: 270, 1969

Schwartz H.L., Lancer S.R., Oppenheimer J.H.
Thyroid hormones influence starvation-induced hepatic protein loss in the rat: possible role of thyroid hormones in the generation of labile protein.
Endocrinology 107: 1684, 1980

Snyder P.J., Utiger R.D.
Response to the thyrotropin releasing hormone (TRH) in normal man.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 34: 380, 1972

Spaulding S.W., Chopra I.J., Sherwin R.S., Lyall S.S.
Effect of caloric restriction and dietary composition on serum T_3 and reverse T_3 in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 42: 197, 1976

Sterling K., Milch P.O., Brenner M.A., Lazarus J.H.
Thyroid hormone action: the mitochondrial pathway.
Science 197: 996, 1977

Suda A.K., Pittman C.S., Shimizu T., Chambers J.B.
The production and metabolism of 3,5,3'-T_3 and 3,3',5'-T_3 in normal and fasting subjects.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 47: 1311, 1978

Takai N.A., Rapaport B., Yamamoto M.
Biliary excretion of iodothyronines in rats as determined by high pressure liquid chromatography: effect of starvation.
Endocrinology 107: 176, 1980

Takaishi M., Miyachi Y., Aoki M., Shishiba Y.
Comparison of methods for tissue triiodothyronine (T_3) extraction and subsequent radioimmunoassay.
Acta Endocrinol. 87: 125, 1978

Towle H.C., Mariash C.N., Oppenheimer J.H.
Changes in the hepatic levels of ribonucleic acid for malic enzyme during induction by thyroid hormone or diet.
Biochemistry 19: 579, 1980

Vagenakis A.G., Burger A., Portnay G.I., Rudolph M., O'Brian J.
Diversion of peripheral thyroxine metabolism from activating to inactivating pathways during complete fasting.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 41 :191, 1975

Vagenakis A.G., Portnay G.I., O'Brian J.T., Rudolph M., Arky R.A., Ingbar S.H., Braverman L.E.
Effect of starvation on the production and metabolism of thyroxine and triiodothyronine in euthyroid obese patients.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 1305, 1977

Van der Heide D., Ende-Visser M.P.
T_4, T_3 and reverse T_3 in the plasma of rats during the first three months of life.
Acta Endocrinol. 93: 448, 1980

Vinik A.I., Kalk W.J., McLaren H., Hendricks S., Pimstone B.L.
Fasting blunts the TSH response to synthetic TRH.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 40: 509, 1975

Visser T.J.
Mechanism of action of iodothyronine-5'-deiodinase.
Biochim. Biophys. Acta 569: 302, 1979

Visser T.J., Van der Does-Tobé I., Docter R., Hennemann G.
Subcellular localization of a rat liver enzyme converting thyroxine into T_3, involvement of essential thiolgroups.
Biochem J. 157: 479, 1976

Visser T.J., Fekkes D., Docter R., Hennemann G.
Sequential deiodination of thyroxine in rat liver homogenate.
Biochem. J. 174: 221, 1978

Visser T.J., Fekkes D., Docter R., Hennemann G.
Kinetics of enzyme reductive deiodination of iodothyronines, effect of pH.
Biochem. J. 179: 489, 1979

Wiersinga W.M., Touber S.H.
The influence of β-adrenoreceptor blocking agents on plasma thyroxine and triiodothyronine.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 293, 1977

Woeber K.A., Ingbar S.H.
Interactions of thyroid hormones with binding proteins.
Handbook of Physiol. Sect. 7, Endocrinol. III: 187, 1974

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. J. Herrmann und Herrn Priv. Doz. Dr. E. Heinen für die großzügige und geduldige Unterstützung der vorliegenden Arbeit danken. Sie lieferten nicht nur die Problemstellung, sondern auch viele wertvolle kritische Diskussionen im Verlauf der Experimente und ihrer Auswertungen.
Ferner gebührt mein Dank Frau P. Anders, Frau U.Becker, Frau J. Rusche, Frau A.Schrage, Frau I. Ströcker sowie Herrn cand. med. A. Müller. Sie halfen mir sowohl direkt bei der Durchführung der Experimente als auch indirekt durch ein angenehmes Arbeitsklima.
Das "National Institute of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases" (Baltimore, USA) stellte freundlicherweise das Ratten-TSH zum Markieren und zum Erstellen der Eichgeraden sowie den Ratten-TSH-Antikörper zur Verfügung.
Die vorliegende Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Lebenslauf

Am 19.1.1959 wurde ich als Sohn des Arztes für Allgemeinmedizin Dr. Heinrich Beyer und seiner Frau Gertrud geb. Spiekermann in Velbert geboren. Hier verbrachte ich meine Kindheit und Schulzeit.
Nach dem Besuch der katholischen Grundschule wechselte ich auf das Geschwister Scholl-Gymnasium und erhielt dort im Sommer 1977 das Reifezeugnis.

Im Herbst 1977 begann ich mit dem Medizinstudium an der Universität Düsseldorf. Dort legte ich im Herbst 1979 die ärztliche Vorprüfung, 1980 den und 1982 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab.

Das praktische Jahr absolvierte ich im Lukaskrankenhaus in Neuss und erhielt am 21. November 1983 meine Approbation als Arzt.